PROF. DR. L. MICHAELIS

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Breslau, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Achtundzwanzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1910.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Michaelis, Leonor und **Heinrich Davidsohn.** Die isoelektrische Konstante des Pepsins 1

Spät, Wilhelm. Untersuchungen über die Präcipitationshemmung durch Präcipitoide 7

Yoshimura, Kiyohisa. Über Fäulnis-Basen (Ptomaine) aus gefaulten Sojabohnen (Glycine hispida) 16

Hirata, Goichi. Beitrag zum Verhalten der Diastase im Blut und im Urin beim Kaninchen 23

Hladík, Jaroslav. Über Vakuumverdampfung 29

Jastrowitz, H. Studien über Oxalsäurebildung im Organismus . . . 34

Marchlewski, L. Studien in der Chlorophyllgruppe. VIII. 48

Rohland, P. Einige neue Phänomene des kolloiden Zustandes . . . 53

Paladino, Raffaele. Zur Kenntnis der Leberpigmente der wirbellosen Seetiere 56

Bertolini, Amilcare. Über das Verhalten der Oberflächenspannung bei der Verbindung von Toxin mit Antitoxin 60

Kaufmann, Ludwig. Über chemische und physiologische Eigenschaften des Triphenlystibinsulfids 67

Kaufmann, Ludwig. Verhalten von Triphenylstibinsulfid im Tierkörper. 86

Blumenthal, Ferdinand. Atoxyl. IV. 91

Moruzzi, G. Über die Änderungen der durch Harnstoff in eiweißhaltigen Flüssigkeiten hervorgerufenen inneren Reibung und elektrischen Leitfähigkeit 97

Offringa, J. Eine neue Methode zur Darstellung von Blutfarbstoffkrystallen 106

Offringa, J. Bemerkungen über die Bereitung von Organpreßsäften mittels Infusorienerde 112

Schmitz, Ernst. Über das Verhalten der p-Oxyphenyl-α-milchsäure und der p-Oxyphenylbrenztraubensäure in der überlebenden Leber . . 117

Korsakow, Marie. Über den Einfluß der Zellipoide auf die Autolyse der Weizenkeime 121

Levene, P. A. und **W. A. Jacobs.** Über das Vorkommen des freien Guanosins in der Pankreasdrüse 127

Vandevelde, A. J. J. Über Invertaseeigenschaften in Malzextrakten . 131

Vandevelde, A. J. J. und **Edm. Poppe.** Über die Wirkung von Fluornatrium auf Pepsin und Trypsin 134

Beuttenmüller, H. und **Felicitas Stoltzenberg.** Beitrag zum Stoffwechsel des Morbus Addisonii 138

Battelli, F. und **L. Stern.** Die Alkoholoxydase in den Tiergeweben . . 145

Loeb, Leo und **Meyer S. Fleisher.** Über die spezifische Adaptierung der in den Säugetier-Erythrocyten vorhandenen Gewebskoaguline 169

Seite
Loeb, Jacques. Über den Einfluß der Konzentration der Hydroxylionen in einer Chlornatriumlösung auf die relative entgiftende Wirkung von Kalium und Calcium 176
Eppinger, Hans. Über Melanurie 181
Rona, P. und L. Michaelis. Beiträge zur allgemeinen Eiweißchemie. II. 193
Kondo, Kura. Über die Ausscheidung von organisch gebundenem Phosphor im Harn 200
Hebting, Josef. Versuche über Entgiftung der Blausäure durch schwefelabspaltende Substanzen 208
Lebedew, A. v. Über Hexosephosphorsäureester 213
Embden, Gustav und Hermann Tachau. Über das Vorkommen von Serin im menschlichen Schweiße 230
Shimidzu, Yoshitaka. Ein Beitrag zur Kumagawa-Sutōschen Fettbestimmungsmethode 237
Parnas, Jakob. Über fermentative Beschleunigung der Cannizaroschen Aldehydumlagerung durch Gewebssäfte. I. 274
Fränkel, Sigmund. Über Lipoide. XIII. 295
Fränkel, Sigmund. Über Lipoide. XIV. 320
Fränkel, Sigmund und Aladar Elfer. Über ein Verfahren der Serumtrocknung 330
Kawashima, K. Zur Kenntnis der Rindensubstanz der Nebennieren 332
Loeb, Jacques und Hardolph Wasteneys. Warum hemmt Natriumcyanid die Giftwirkung einer Chlornatriumlösung für das Seeigelei? 340
Loeb, Jacques und Hardolph Wasteneys. Ist der Stillstand rhythmischer Kontraktionen in einer reinen Chlornatriumlösung durch Erhöhung der Oxydationsgeschwindigkeit bedingt? 350
Michaelis, Leonor. Erwiderung auf die Arbeit von Pauli und Wagner: „Die innere Reibung von Albuminlösungen“ 353
Neuberg, Carl. Über eine neue Bildungsweise von Carbonylsäuren der Kohlenhydratreihe 355
Orgler, Arnold. Über den Ansatz bei natürlicher und künstlicher Ernährung. II. 359
Gatz, E. und R. Inaba. Zur Theorie der Wassermannschen Reaktion 374
Straub, Walther. Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophanthinwirkung 392
Rosenthaler, L. Über δ-Emulsin 408
Liesegang, Raphael Ed. Die Veraschung von Mikrotomschnitten . . 413
Schippers, J. C. Über die Autolyse des normalen Blutes 418
Müller, Otto. Über die Verdauungsarbeit nach Kohlenhydratnahrung in ihrer Abhängigkeit von der physikalischen Beschaffenheit der Nahrung 427
Dahm, Karl. Die Bedeutung des mechanischen Teils der Verdauungsarbeit für den Stoffwechsel des Rindes 456
Welde, Ernst. Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren 504
Wender, Neumann. Bestimmung des Zuckers durch Reduktion von Farbstoffen 523
Neuberg, C. und A. Hildesheimer. Die Bestimmung der Phenole im Rinderharn 525
Lebedew, A. v. Berichtigung 528

Die isoelektrische Konstante des Pepsins.

Von

Leonor Michaelis und Heinrich Davidsohn.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban.)

(Eingegangen am 4. Juli 1910.)

Mit dem Namen der isoelektrischen Konstante eines amphoteren Elektrolyten bezeichnet man — wie wir in früheren Arbeiten ausführlich erörtert haben — denjenigen Gehalt der Lösung an Wasserstoffionen, bei dem positive und negative Ionen dieses Körpers an Menge einander gleich sind und die Summe beider Ionen ein Minimum darstellt. Von denjenigen Körpern, deren isoelektrische Konstante (I) bisher mehr oder weniger genau bestimmt worden ist, zeichnet sich das Pepsin dadurch aus, daß seine isoelektrische Konstante ganz besonders groß ist. Dementsprechend ist auch die relative Aciditätskonstante (R) sehr groß. Wir rekapitulieren bezüglich des Zusammenhangs dieser beiden Konstanten nur kurz, daß $I = \frac{R^2}{k_w}$ ist, wo k_w die Dissoziationskonstante des Wassers bedeutet.

Bei den früheren Versuchen, die Konstante des Pepsins zu bestimmen, gelang es uns nur, einen annähernden Grad von Genauigkeit zu erreichen, weil wir Theorie und Praxis der „Reaktionsregulatoren" noch nicht so beherrschten wie heute. Es wurde z. B. in der ersten Mitteilung mit einer $^n/_{400}$-Salzsäure gearbeitet, einer Lösung, deren H-Ionenkonzentration schon an sich, besonders aber in Gegenwart von Eiweiß oder Fermenten überhaupt nicht mehr sicher definiert ist. Auch hat sich inzwischen die Technik der Konzentrationsketten so

vereinfacht, daß wir heute in der Lage sind, die wahre H-Ionenkonzentration in den Lösungen, durch die der Strom hindurch geschickt worden ist, nachträglich aufs genaueste zu kontrollieren. Wir konnten also jedesmal exakt feststellen, ob der Stromdurchgang eine Veränderung hervorgerufen hatte.

Nach langen Erfahrungen erwies sich als Anordnung der verschiedenen Flüssigkeiten im Überführungsapparat für so hohe Aciditäten, wie es das Pepsin erfordert, folgende als die beste:

1. bei Aciditäten bis herauf zu $[H^{\cdot}] = 2 \cdot 10^{-4}$

+ Ag, ClNa	Acetatgemisch	Ferment in Acetatgemisch	Acetatgemisch	Cu in $CuCl_2$ −

2. bei Aciditäten zwischen $[H^{\cdot}] = 5 \cdot 10^{-4}$ und $2 \cdot 10^{-3}$

+ Ag, ClNa	Milchsäurelösung	Ferment in Milchsäurelösung	Milchsäurelösung	Cu in $CuCl_2$ −

oder statt Milchsäure- Essigsäurelösungen. Diese Säuren wurden in den verschiedenen Versuchen natürlich in wechselnder Konzentration angewendet.

Die H-Ionenkonzentration in einer solchen Säurelösung ist

$$[H^{\cdot}] = \sqrt{K \text{ (Säure)}},$$

K für Essigsäure $= 1{,}8 \cdot 10^{-5}$,

K für Milchsäure $= 1{,}35 \cdot 10^{-4}$.

3. Bei höheren Aciditäten verwendeten wir Salzsäurelösungen, und zwar bei Konzentrationen von $^{n}/_{50}$ aufwärts, in der Weise, daß das Silber statt in ClNa in starke Salzsäure gebracht wurde. Die Zeitdauer des Stromdurchgangs von 110 Volt Klemmenspannung wurde auf 4 bis 12 Stunden bemessen. Nach Beendigung des Versuches wurden die Seitenflüssigkeiten schätzungsweise mit Indicatoren, die Mittelflüssigkeit nach Hinzufügung von einigen Körnchen ClK — zur Erhöhung der Leitfähigkeit — exakt mit Konzentrationsketten auf $[H^{\cdot}]$ geprüft. Es zeigte sich, wie man aus den Protokollen ersieht, daß innerhalb weitgehender Ansprüche die H-Ionenkonzentration, so oft wir daraufhin prüften, während des Versuches konstant blieb. Dieses Ergebnis war durch keine der früheren Überführungsmethoden auch nur annähernd zu erreichen.

Wir gebrauchten zu unseren Versuchen das Pepsinum purissimum Grübler, und zwar in einer solchen Konzentration, daß die Mittelflüssigkeit des Überführungsrohres 1 % Pepsin enthielt.

Nach Beendigung des Versuches wurden dann die Seitenflüssigkeiten auf die Anwesenheit von Pepsin geprüft. Wir benutzten dazu die Caseinmethode. Unsere Lösung enthielt 2,5 ‰ Casein und war in bezug auf Salzsäure $^{n}/_{50}$. 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden mit 2 ccm der Caseinlösung versetzt und mit dünner Salzsäure so weit angesäuert, daß Congopapier gerade gebläut wurde. Die Verdauung beobachteten wir in einem Wasserbade von 37°. In Zwischenräumen von etwa 10 Minuten entnahmen wir Proben von 1 ccm. Jede Probe wurde mit einem Tropfen Lackmustinktur als Indicator versetzt. Dazu kam 1 Tropfen starker Natronlauge, wodurch die Reaktion deutlich alkalisch wurde, und schließlich 3 Tropfen konzentrierte Essigsäure, wobei das unverdaute Casein in dicken Flocken ausfiel. Wir bedienten uns stets dieser Prüfungsmethode, weil das durch die vorhergehende Hinzufügung von Natronlauge entstehende Regulationsgemisch von Natriumacetat und Essigsäure uns eine Gewähr dafür bot, daß durch 1 oder 2 Tropfen Essigsäure zu viel die für die Ausflockung des Caseins passende Acidität nicht gleich überschritten wurde. Damit wir uns aber stets davon überzeugen konnten, daß der eine Tropfen Natronlauge ausreichte, um eine deutliche Alkalität zu erzeugen, setzten wir noch Lackmus als Indicator hinzu.

Bei dieser Gelegenheit stießen wir auf einen sehr bequemen, allerdings nur qualitativ zu gebrauchenden Nachweis des Pepsins, der uns in späteren Versuchen als Orientierungsmethode diente und das Arbeiten sehr erleichterte.

Zu diesem Zweck setzt man zu dem eben beschriebenen Gemisch der auf Pepsin zu untersuchenden Flüssigkeit mit der Caseinlösung einen Tropfen einer $^{1}/_{4}$ %igen Tropäolinlösung (in 50 % Alkohol) als Indicator hinzu und läßt verdünnte Salzsäure unter ständigem Umschütteln so lange dazu tropfen, bis das Tropäolin vom gelben Farbenton den ersten Stich ins Orange annimmt. Diese Acidität entspricht dann stets derjenigen, bei der Congopapier gerade gebläut wird.

Nun aber beobachtet man, daß in denjenigen Röhrchen, in denen eine Verdauung des Caseins stattfindet, die Farbe in wenigen Minuten in Rot umschlägt. Dies beruht nicht, wie man vielleicht annehmen könnte, auf einer Änderung der H-Ionenkonzentration während der Verdauung; eine solche war auch in Anbetracht der sehr geringen Mengen von Casein und der unbedeutenden Mengen daraus entstehender säurebindender Peptone nicht zu erwarten, und, wenn überhaupt, gerade im umgekehrten Sinne. Messungen mit Konzentrationsketten zeigten in der Tat, daß $[H^{\cdot}]$ vor und nach der Rotfärbung gleich war. Die Ursache dieser Erscheinung ist vielmehr in dem sogenannten Indicatorfehler des Tropäolins[1]) zu suchen, und zwar darin, daß das Tropäolin die gleiche H.-Ionenkonzentration bei Gegenwart von Casein anders anzeigt wie bei Gegenwart von Peptonen.

Die Überführungsversuche verliefen im einzelnen folgendermaßen (s. nebenstehende Tabelle).

In Übereinstimmung mit der früher entwickelten Theorie finden wir somit eine gewisse Zone von H-Ionenkonzentrationen, bei der das Pepsin eine doppelsinnige Wanderung zeigt, bei der also die Lösung sowohl positive wie negative Pepsinionen in vergleichbarer Menge nebeneinander enthält. Diese Zone umfaßt das Bereich von $9{,}9 \cdot 10^{-3}$ bis $1{,}2 \cdot 10^{-3}$, wenn wir von Versuch 13 und 18, die ein wenig aus der Reihe fallen, absehen.

Nehmen wir das arithmetische Mittel dieses Bereichs als den besten Näherungswert für den isoelektrischen Punkt, so ergibt sich

$$I = 5{,}5 \cdot 10^{-3}$$

folglich

$$R = 5 \cdot 10^{+9}.$$

Ist $[H^{\cdot}]$ merklich größer als I, so ist das Pepsin eindeutig kathodisch, ist es kleiner, so ist es anodisch. Als neues Resultat können wir aber ferner hinzufügen, daß man bei stärkerer Überschreitung von I zu einem Punkt kommt, an dem das Pepsin wieder doppelsinnig wandert (Versuch 1 bis 5). Die Erklärung hierfür ist offenbar folgende: Bei Vermehrung der Salzsäure tritt infolge des Überschusses von Cl-Ionen als neue Molekülgattung

[1]) Vgl. Michaelis und Rona, Zeitschr. f. Elektrochem. 14, 251, 1908, sowie diese Zeitschr. 23, 61, 1909 und besonders Sörensen, diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

undissoziiertes Pepsiniumchlorid in Lösung — wenn wir diesen leicht verständlichen Ausdruck anwenden dürfen. Da die sonst bei saurer Reaktion vorherrschende positive Ladung des Pepsins durch die Bindung an das Cl-Atom vernichtet wird, so muß die negative Ladung des Pepsins wieder hervortreten.

Tabelle.

Versuch Nr.	Grundflüssigkeit	[H˙] berechnet	[H˙], nach dem Stromdurchgang in der Mittelflüssigkeit durch Gasketten bestimmt	Wanderung des Pepsins
1	$^n/_{10}$-Salzsäure	$0{,}9 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-1}$	kathodisch + anodisch
2	id.	$0{,}9 \cdot 10^{-1}$	—	„ + „
3	id.	$0{,}9 \cdot 10^{-1}$	—	„ + „
4	$^n/_{20}$-Salzsäure	$4{,}3 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	„ + „
5	id.	$4{,}3 \cdot 10^{-2}$	—	„ + „
6	$^n/_{50}$-Salzsäure	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	kathodisch
7	id.	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	„
8	id.	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	„
9	id.	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	—	„
10	$^n/_{100}$-Salzsäure	$9{,}9 \cdot 10^{-3}$	$9{,}7 \cdot 10^{-3}$	„
11	id.	$9{,}9 \cdot 10^{-3}$	—	anodisch + kathodisch
12	id.	$9{,}9 \cdot 10^{-3}$	—	„ + „
13	$^n/_{200}$-Salzsäure	$4{,}9 \cdot 10^{-3}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	anodisch
14	$^n/_{10}$-Milchsäure	$3{,}7 \cdot 10^{-3}$	$3{,}0 \cdot 10^{-3}$	anodisch + kathodisch
15	$^n/_{50}$-Milchsäure	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	„ + „
16	$^n/_{10}$-Essigsäure	$1{,}3 \cdot 10^{-3}$	$7{,}9 \cdot 10^{-4}$	„ + „
17	$^n/_{100}$-Milchsäure	$1{,}2 \cdot 10^{-3}$	$5{,}2 \cdot 10^{-4}$	„ + „
18	$\frac{\text{Essigs.}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{10}{1}$	$1{,}8 \cdot 10^{-4}$	—	„ + „
19	id.	$1{,}8 \cdot 10^{-4}$	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	anodisch
20	id.	$1{,}8 \cdot 10^{-4}$	—	„
21	$\frac{\text{Essigs.}}{\text{Na-Acetat}} = \frac{1}{1}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	—	„
22	id.	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	—	„

Wir können also auch nach dieser neuen Bestimmung der isoelektrischen Konstante des Pepsins bestätigen, daß die proteolytische Wirkung des Pepsins nur dann eintritt, wenn es wirklich positive Ionen enthält. Aus einem Vergleich obiger Versuche mit den an anderer Stelle[1]) mitgeteilten müssen wir ferner schließen, daß das Optimum der proteolytischen Wirkung dem Maximum an positiven Pepsinionen entspricht. Beide liegen

[1]) Leonor Michaelis und Heinrich Davidsohn, Über die Acidität des Magensaftes. Arch. f. experim. Pathol. u. Therapie 1910.

bei einer H-Ionenkonzentration von $1{,}5 \cdot 10^{-2}$. Die Ursache, warum bei Überschreitung dieses Optimums die verdauende Wirkung schwächer wird, ist darin zu sehen, daß die Menge der wirksamen positiven Pepsinionen auf Kosten des entstehenden Pepsiniumchlorids verringert wird. Das Optimum der proteolytischen Pepsinwirkung kann daher durch diejenige saure Reaktion definiert werden, bei der einerseits möglichst viele positive Pepsinionen vorhanden sind, während andererseits noch keine merkliche Menge von undissoziiertem Pepsiniumchlorid entstanden ist. Schließlich beginnt bei derselben H-Ionenkonzentration, bei der das Pepsiniumchlorid in merklicher Menge auftritt, die Zerstörung des Pepsins durch die Säure, die wir in einer anderen Arbeit[1]) gezeigt haben. Es ist daher wahrscheinlich, daß die Empfindlichkeit des Pepsins gegen Salzsäureüberschuß auf einer spontanen Zersetzung des Pepsiniumchlorids beruht.

[1]) Siehe Fußnote S. 5. Vgl. dazu auch Sörensen, l. c.

Untersuchungen über die Präcipitationshemmung durch Präcipitoide.

Von

Wilhelm Spät.

(Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 4. Juli 1910.)

Vorliegende Versuche bilden einen Teil jener Arbeiten, welche die Frage der Existenz der sog. freien Receptoren betreffen und die sich zur Aufgabe gestellt haben, die Verhältnisse aufzuklären, die bei den Reaktionen zwischen gelösten Bakterienbestandteilen — Extrakten — und den homologen Immunseris auftreten. Nachdem Weil[1]) nachgewiesen hat, daß die Agglutinationsbehinderung, die beim Zusatz von Typhusimmunserum zu Typhusbacillen, die in einem Typhusextrakt aufgeschwemmt waren, zu konstatieren ist, nicht durch eine Bindung zwischen Immunserum und Extrakt gedeutet werden darf, untersuchte er in dieser Hinsicht das Verhalten der zur Reaktion verwendeten Stoffe bei spezifischer Komplementbindung und fand, daß auch hier, entgegen der allgemein angenommenen Anschauung, eine Verankerung zwischen dem Antigen — solange es in gelöster Form vorliegt —, also dem Bakterienextrakt und dem zugehörigen Immunkörper nicht stattfindet, daß der Immunkörper vielmehr nach Art eines Fermentes bloß durch seine Anwesenheit wirkt, ohne gebunden oder verbraucht zu werden. Ganz analoge Verhältnisse konnte Spät[2]) bei der Wassermannschen Reaktion feststellen.

Trotz dieser übereinstimmenden Resultate, die alle besagen, daß den gelösten Bakterienbestandteilen keine haptophoren Gruppen zu-

[1]) Diese Zeitschr. 24, 219, 1910. Über die Bedeutung der Antigen-Antikörperverankerung für die spezifische Komplementbindung.

[2]) Folia Serologica 1910.

kommen, suchten wir für diese Frage von prinzipieller theoretischer Bedeutung auch noch auf einem anderen Gebiete eine neue Bestätigung. Wir wählten zu diesem Zwecke die Erscheinung der Präcipitationshemmung durch inaktivierte Immunsera. Tschistovitsch[1]) und E. P. Pick[2]) haben gefunden, und zwar ersterer für Serumpräcipitine, letzterer für Bakterienpräcipitine, daß präcipitierende Sera nach längerer Erhitzung (1 Stunde 70° bzw. 58 bis 60°) die Eigenschaft verlieren, in den zugehörigen Extrakten bzw. Eiweißlösungen einen Niederschlag zu erzeugen. Kraus und von Pirquet[3]) studierten nun genauer diese Verhältnisse, um zu ermitteln, ob durch die Erhitzung der betreffenden Sera das Präcipitin gänzlich zerstört wird, oder — wie A. Joos[4]) bei Salzmangel an agglutinierenden Seris nachgewiesen hatte — bloß die koagulierende Eigenschaft verloren geht, während die Fähigkeit zu binden noch erhalten bleibt. Ihre Versuche ergaben, daß das Serum durch die Inaktivierung nicht nur für sich selbst die präcipitierende Fähigkeit eingebüßt hat, sondern überdies das Auftreten der Präcipitation bei nachträglichem Zusatz von aktivem Immunserum hemmt. In diesem Befunde erblicken die Autoren den Beweis, daß die Erhitzung nur die fällende Eigenschaft aufhebt, nicht aber die bindenden Gruppen zerstört. Das Präcipitin besitze demnach 2 Gruppen, eine fällende und eine bindende; letztere erlange nach Zerstörung der ersten eine größere gesteigerte Avidität zu den haptophoren Gruppen des Extraktes, mit dem sie eine Bindung eingeht, weshalb das später zugesetzte Immunserum kein Substrat mehr vorfindet, mit dem es eine Präcipitation erzeugen konnte.

Nach den oben erwähnten Untersuchungen Weils schien uns diese Erklärung der hemmenden Wirkung der Präcipitoide nicht zutreffend, weil sie bei den Bakterienextrakten haptophore Gruppen (freie Receptoren) voraussetzt, deren Vorhandensein von Weil negiert wird. Wir suchten nun zu ermitteln, ob tatsächlich bei der von Kraus und v. Pirquet gewählten Versuchsanordnung zwischen dem inaktiven Immunserum und dem Bakterienextrakt eine Verankerung eintritt. Sollte dies — wie wir vermuteten — nicht der Fall sein, so wird es möglich sein, den Immunkörper nach bzw. trotz dessen Einwirkung auf den Extrakt aus der Mischung beider genannten Stoffe zu eliminieren und von neuem zu einer anderweitigen Funktion zu verwenden.

---

[1]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1899.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1901.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig.-Bd. 32. Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge.

[4]) Zeitschr. f. Hygiene 1901.

Im Sinne dieser Erwägung wählten wir für unsere Versuche nachstehenden Vorgang:

Bakterienextrakt wurde mit inaktivem Immunserum in den aus den Tabellen ersichtlichen Mengen zusammengebracht und 1 Stunde im Brutschrank, behufs eventueller Bindung, gehalten. Nach dieser Zeit wurden Bakterien zugesetzt (die Flüssigkeit wurde in ein Zentrifugiergläschen mit einem Bakterienzusatz gegossen) und abermals 1 Stunde bei 37° belassen. Sodann wurden die Bakterien abzentrifugiert und zum klaren Abguß aktives Immunserum zugesetzt. Die Röhrchen kamen jetzt auf 1 bis 2 Stunden in den Brutschrank; die weitere Beobachtung geschah bei Zimmertemperatur.

Bezüglich der einzelnen zum Versuche verwendeten Stoffe wäre folgendes zu bemerken:

Zur Gewinnung des Bakterienextraktes (aus Cholera- oder Typhusbacillen) wurde der Inhalt einer Kolleschen Schale mit üppigem Wachstum mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, 3 bis 4 Stunden bei 65° erhitzt, über Nacht bei Zimmertemperatur gehalten und schließlich vollkommen klar zentrifugiert. Hierzu waren bei unserer Zentrifuge (3000 Umdrehungen in der Minute) einige Stunden erforderlich.

Was die Inaktivierung der Immunsera betrifft, so konnten wir uns überzeugen, daß die hierfür bei verschiedenen Autoren gemachten Angaben keine allgemeine Gültigkeit haben, denn wir konnten in den ersten Vorversuchen feststellen, daß eine 1stündige Erhitzung bei 70° die präcipitierende Fähigkeit sowohl hochwertiger Immunsera als auch des normalen Rinderserums nur ganz ausnahmsweise aufhebt, und wir mußten in der Folge die Inaktivierung bei 75° durch 1 Stunde durchführen. Wir waren aus diesem Grunde gezwungen, um eine Gerinnung der Sera zu verhindern, dieselben zu verdünnen, und zwar für gewöhnlich im Verhältnis 1:5 oder 1:10. Trotz dieser Verdünnung nahmen die Sera nach der Erhitzung eine leicht opalescierende Farbe an, ohne jedoch ganz trübe zu werden. Beim normalen Rinderserum war die Veränderung eine viel stärkere, so daß dadurch die Beobachtung der beginnenden Präcipitation, das Auftreten der feineren Ausflockung, fast unmöglich war.

Große Schwierigkeiten bereitete anfangs die Entfernung der Bakterien. Wir zentrifugierten zu diesem Zwecke auf der

elektrischen Zentrifuge in der Regel $^{3}/_{4}$ bis 1 Stunde, wobei das Zentrifugat vollkommen wasserklar wurde. Die sicherlich noch enthaltenen, wenn auch nur einzelnen Bakterien konnten jedoch im weiteren Verlauf des Versuches in der Bruttemperatur eine Vermehrung erfahren und die Reaktion durch Auftreten von Agglutination durch das aktive Immunserum stören, was auch tatsächlich bei einem der ersten Versuche eingetreten ist. Um dies zu verhindern, haben wir anfangs nach dem aktiven Serum sofort noch einige Tropfen Toluol zu jedem Röhrchen zugesetzt. In den späteren Versuchen sind wir dieser Schwierigkeit dadurch aus dem Wege gegangen, daß wir nur abgetötete Bakterien benutzten, die sich für unsere Zwecke genau so verhielten wie lebende. Zur Bindung (Erschöpfung) von 0,1 bis 0,2 ccm inaktiven Immunserums waren relativ große Mengen von Bakterien erforderlich; wir verwendeten hierzu mindestens 2 üppig gewachsene Agarkulturen pro Röhrchen, häufig noch mehr, so den Satz einer Kolleschen Schale, der uns beim Bereiten des Extraktes beim Abzentrifugieren übrig blieb.

Die Resultate unserer Versuche sind aus folgenden Tabellen ersichtlich.

Tabelle I.

Versuch mit Cholera.

1	0,2 Choleraextrakt + 0,1 inaktives Choleraimmunserum (verdünnt)	1 Stunde bei 37°	Zusatz von Bakterien (Cholerabacillen) 1 St. bei 37°, dann Abzentrifugieren der Bakterien	0,2 ccm aktives Choleraimmunserum 1 bis 2 St. im Brutschrank, dann ca. 4 St. bei Zimmertemperatur	Präcipitation
2	0 Choleraextrakt + 0,1 inaktives Choleraimmunserum (verdünnt)				0
3	0,2 Choleraextrakt + 0 inaktives Choleraimmunserum (verdünnt)				Präcipitation
4	0,2 Choleraextrakt + 0,1 inaktives Choleraimmunserum (verdünnt)				0
5	0,2 Choleraextrakt + 0,1 inaktives Choleraimmunserum (verdünnt)				0

Dieser Versuch zeigt, daß, nachdem Extrakt und inaktives Immunserum 1 Stunde aufeinander eingewirkt hatten, die Bakterien den offenbar freien Immunkörper eliminieren und an sich gebunden haben, so daß das später zugesetzte aktive Choleraimmun-

serum mit dem gleichfalls freien Extrakt eine Präcipitation hervorbringen konnte (Röhrchen 1). Es war somit zwischen dem Extrakt und dem inaktiven Serum keine Bindung eingetreten. Röhrchen 3 demonstriert die Wirksamkeit des Extraktes und des aktiven Immunserums. Es ist vielleicht nicht überflüssig an dieser Stelle darauf hinzuweisen, daß der Extrakt stets frisch sein muß, weil er eine nur sehr geringe Haltbarkeit besitzt, namentlich für Präcipitationszwecke, während er beispielsweise für Komplementbindungsversuche eine viel längere Zeit brauchbar ist.

Die Probe 5 bestätigt die richtige Inaktivierung des Immunserums, eine Kontrolle, die nie zu unterlassen ist, weil das Verhalten einzelner Sera kein gleichmässiges ist. Die Probe 4 zeigt die hemmende Wirkung dieses inaktivierten Serums.

Das Röhrchen 2 wurde deshalb eingeschaltet, weil wir uns überzeugt haben, daß durch das bloß 1stündige Verweilen der (lebenden) Bakterien in unserer Flüssigkeit bei Bruttemperatur sich allerdings ganz minimale Quantitäten von Extrakt bilden, und es galt die Möglichkeit auszuschließen, daß diese Mengen es sind, die mit dem aktiven Serum die positive Reaktion geben; wir sehen aber im Röhrchen 2 keinen Niederschlag. Daß aber die Bakterien in der Tat geringste Mengen von Extrakt in dieser kurzen Zeit bei 37° abgeben, entnahmen wir aus dem Umstande, daß die Präcipitation im Röhrchen 1 oftmals etwas stärker war als im Röhrchen 3.

Tabelle II.

Versuch mit Typhusextrakt und Typhusimmunserum.

1	0,2 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)	1 Stunde bei 37°	Zusatz von Bakterien (Typhusbazillen) 1 St. bei 37°, dann Abzentrifugieren der Bakterien	0,2 ccm aktives Typhusimmunserum 1 bis 2 St. im Brutschrank, dann ca. 4 St. bei Zimmertemperatur	Präcipitation
2	0 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				0
3	0,2 Typhusextrakt + 0 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				Präcipitation
4	0,2 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				0
5	0,2 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				0

Dasselbe Resultat ergaben Versuche mit Typhusextrakt und Typhusimmunserum (Tabelle II). Auch hier konnte der Nachweis erbracht werden, daß in der Mischung von Extrakt und inaktivem Immunserum nach einem 1stündigen Aufenthalt im Brutschrank diese beiden Stoffe frei, unverbraucht und zu weiteren Reaktionen verfügbar waren. Die Zubereitung der Extrakte, Inaktivierung des Serums und der sonstige Vorgang erfolgte in derselben Weise wie in Versuch I.

Tabelle III.

Versuch mit Choleraextrakt und normalem Rinderserum.

1	0,2 Choleraextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)	1 Stunde bei 37°	Zusatz von Bakterien (Cholerabacillen) 1 St. bei 37°, dann Abzentrifugieren der Bakterien	0,4 normales Rinderserum 1 bis 2 St. im Brutschrank, dann ca. 4 St. bei Zimmertemperatur	Präcipitation
2	0 Choleraextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				0
3	0,2 Choleraextrakt + 0 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				Präcipitation
4	0,2 Choleraextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				0
5	0,2 Choleraextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				0

Tabelle IV.

Versuch mit Typhusextrakt und normalem Rinderserum.

1	0,2 Typhusextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)	1 Stunde bei 37°	Zusatz von Bakterien (Typhusbacillen) 1 St. bei 37°, dann Abzentrifugieren der Bakterien	0,4 normales Rinderserum 1 bis 2 St. im Brutschrank, dann ca. 4 St. Zimmertemperatur	Präcipitation
2	0 Typhusextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				0
3	0,2 Typhusextrakt + 0 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				Präcipitation
4	0,2 Typhusextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				0
5	0,2 Typhusextrakt + 0,2 normales inaktiviertes Rinderserum (verdünnt)				0

In weiteren Versuchen benützten wir an Stelle der Immunsera normales Rinderserum, das bekanntlich gerade für Typhus und Cholera reichliche Gegenkörper besitzt und daher für unsere Zwecke sehr geeignet erschien. In der Tat konnten wir, wie die Tabellen III und IV zeigen, mit diesem Serum die gleichen Ergebnisse erzielen wie mit Immunseris. Sehr störend wirkte hier, wie bereits erwähnt, das fast milchige Aussehen des Serums nach der Inaktivierung trotz 10facher Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung; die feinere Ausflockung konnte nicht beobachtet werden und das Resultat lediglich nach Ablauf der Reaktion, nach dem Vorhandensein oder Fehlen eines Bodensatzes beurteilt werden. Aus diesem Grunde modifizierten wir in späteren Versuchen den Vorgang derart, daß wir als Präcipitoid ein inaktives Immunserum, bei dem die Trübung nach der Erhitzung weit geringer, jedenfalls nicht störend ist, zum Ausfüllen dagegen aktives normales Rinderserum benützten.

Tabelle V.

Versuch mit Choleraextrakt und normalem Rinderserum.

<table>
<tr><td>1</td><td>0,2 Choleraextrakt + 0,1 inaktiviertes Choleraimmunserum (verdünnt)</td><td rowspan="5">1 Stunde bei 37°</td><td rowspan="2">Zusatz von Bakterien (Cholerabacillen) 1 St. bei 37°, dann Abzentrifugieren der Bakterien</td><td rowspan="4">0,4 aktives normales Rinderserum 1 bis 2 St. im Brutschrank, dann ca. 4 St. bei Zimmertemperatur</td><td>Präcipitation</td></tr>
<tr><td>2</td><td>0 Choleraextrakt + 0,1 inaktiviertes Choleraimmunserum (verdünnt)</td><td>0</td></tr>
<tr><td>3</td><td>0,2 Choleraextrakt + 0 inaktiviertes Choleraimmunserum (verdünnt)</td><td rowspan="3"></td><td>Präcipitation</td></tr>
<tr><td>4</td><td>0,2 Choleraextrakt + 0,1 inaktiviertes Choleraimmunserum (verdünnt)</td><td>0</td></tr>
<tr><td>5</td><td>0,2 Choleraextrakt + 0,1 inaktiviertes Choleraimmunserum (verdünnt)</td><td></td><td>0</td></tr>
</table>

Die Mengen des zuzusetzenden normalen Rinderserums mußten vielfach variiert werden, weil dessen Gehalt an Immunkörpern bei verschiedenen Tieren großen Schwankungen unterworfen ist. Die für den Versuch geeignetsten Quantitäten wurden daher jedesmal vorher in einem Vorversuche mit dem zu benützenden Extrakt ermittelt.

Tabelle VI.

Versuch mit Typhusimmunserum und normalem Rinderserum.

1	0,2 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)	1 Stunde bei 37°	Zusatz von Bakterien (Typhusbazillen) 1 St. bei 37°, dann Abzentrifugieren der Bakterien	0,4 aktives normales Rinderserum 1 bis 2 St. im Brutschrank, dann ca. 4 St. bei Zimmertemperatur	Präcipitation
2	0 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				0
3	0,2 Typhusextrakt + 0 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				Präcipitation
4	0,2 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				0
5	0,2 Typhusextrakt + 0,1 inaktives Typhusimmunserum (verdünnt)				0

Alle angeführten Versuche zeigen vollkommen übereinstimmend, daß die durch inaktiviertes Immun- oder Normalserum bewirkte Hemmung der Präcipitation nicht auf eine Bindung zwischen dem inaktiven Serum (Präcipitoid) und den Bakterienextrakt zurückgeführt werden kann. Es wäre sonst nicht möglich, nach erfolgter Einwirkung dieser beiden Reagenzien aufeinander, ein jedes von ihnen von neuem zu anderweitigen Reaktionen heranzuziehen. Beide Stoffe erweisen sich aber nach entsprechender Einwirkungsdauer als vollkommen frei. So konnte einerseits der Immunkörper durch Bakterien entzogen werden, der Extrakt gibt mit dem aktiven Serum eine Präcipitation.

Naheliegend ist allerdings der Einwand, auf den Weil selbst hingewiesen hat, daß zwischen dem Extrakt und dem Immunkörper doch eine Bindung stattgefunden hatte, daß aber später der letztere auf die Bakterien übersprungen wäre. Diese Deutung wäre aber nur dann berechtigt, wenn man annimmt, daß die Bakterien eine größere Avidität zum Immunkörper besitzen als der Extrakt, so daß sie imstande wären, denselben aus seiner Verankerung herauszulösen. Allein gerade diese Anschauung kann hier nicht in Betracht kommen, nachdem alle Autoren, die beim Extrakt haptophore Gruppen annehmen und den

Begriff der freien Receptoren eingeführt haben, diesen eine größere Avidität zum Immunkörper als den Bakterien zuschreiben. Es ist somit nach den gegenwärtigen Anschauungen nicht denkbar, daß die Bakterien die zwischen Extrakt und Immunkörper bereits bestandene Bindung vollkommen sprengen können, um diesen an sich zu ziehen, und es erscheint daher nur die Annahme berechtigt, daß zwischen dem Extrakt und Immunserum eine Verankerung im Sinne Ehrlichs nicht stattgefunden hat. Unsere Resultate stehen somit in Übereinstimmung mit den Befunden Weils, die den gelösten Bakterienbestandteilen haptophore Gruppen absprechen.

Die Frage, worauf die hemmende Wirkung der inaktiven Sera beruht, ist somit wieder offen, und wir lassen es dahingestellt, ob für diese Erscheinung physikalisch-chemische Veränderungen des Mediums etwa eine Art von kolloidaler Umhüllung, was allerdings ebenfalls keine befriedigende Erklärung ist, verantwortlich zu machen wären. Wir waren lediglich bestrebt, den Nachweis zu erbringen, daß die bis jetzt geltende Erklärung durch Bindung zwischen den haptophoren Gruppen des Extraktes und dem Präcipitoid nicht den Tatsachen entspricht.

Ob unseren Befunden eine allgemeine Gültigkeit zukommt, werden weitere Versuche zeigen, die wir zunächst auf Serumpräcipitine auszudehnen gedenken.

Über Fäulnis-Basen (Ptomaine) aus gefaulten Sojabohnen (Glycine hispida).

Von

Kiyohisa Yoshimura.

(Aus dem Universitätslaboratorium für Nahrungsmittelchemie in Halle a. S.)

(Eingegangen am 5. Juli 1910.)

Eiweiß durch Fäulnisbakterien zersetzt, liefert bekanntlich verschiedene organische Basen. Die Hexonbasen, nämlich Histidin, Arginin und Lysin, welche die Eiweißspaltungsprodukte vom primären Vorgang sind, der als ein rein tryptischer Spaltungsprozeß anzusehen ist, werden durch sekundäre Vorgänge in einfachere Basen weiter verwandelt.

Neuerdings erklärte Ackermann[1]), daß Histidin durch Bakterienwirkung in β-Imidazolyläthylamin und CO_2 gespalten wird. Arginin gibt, mit Barythydrat gekocht, Harnstoff und Ornithin[2]); ebenso bildet das Ferment Arginase[3]) aus Arginin Harnstoff und Ornithin unter Aufnahme eines Moleküls Wasser. Das Ornithin gibt nach Ellinger[4]) bei der Fäulnis Tetramethylendiamin (Putrescin). Lysin geht nach demselben Autor[4]) bei der Fäulnis in Pentamethylendiamin (Kadaverin) über. Cholin, das als ein Spaltungsprodukt des Lecithins bekannt ist, geht weiter bei der Fäulnis in Trimethylamin über.

Sojabohnen[5]) enthalten gewöhnlich 1,64% Lecithin und 32,18% Eiweiß. Es ist deshalb höchst wahrscheinlich, daß die oben erwähnten Basen bei Fäulnis von Sojabohnen in ziemlich erheblicher Menge entstehen.

---

1) D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1910, 65, 504.

2) Schulze und Winterstein, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 30, 2879.

3) A. Kossel und H. D. Dakin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 321.

4) A. Ellinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 334, 1902.

5) Czapek, Biochemie der Pflanzen 1905, I, 158.

Früher habe ich[1]) Ornithin, Putrescin und eine Base ($C_6H_9N_3$?) in der Tamari-Schoyu-Sauce[2]) gefunden. Es schien mir von Interesse, jene Untersuchung nochmals eingehender zu prüfen und es gelang, β-Imidazolyläthylamin, Putrescin, Kadaverin und Trimethylamin zu isolieren.

Experimenteller Teil.

1 kg Sojabohnen (Glycine hispida) wurden 24 Stunden im Wasser stehen gelassen und dann gekocht. Danach wurden die weich gekochten Bohnen in einem Mörser stark zerkleinert, mit 4 l Wasser gemischt und gerührt bis die Substanz einen milchigen Brei bildete; dieser wurde in eine Flasche gegossen und bei Zimmertemperatur stehen gelassen vom 7. Dezember 1909 bis 13. April 1910 unter zeitweiligem Schütteln. Hierauf wurde die Masse mit Wasser etwas verdünnt und durch ein Tuch koliert, die Flüssigkeit mit Bleiessig versetzt und filtriert. Das Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und in einem Wasserbade etwas eingeengt.

Mit einem kleinen Teile der Flüssigkeit wurde zuerst eine quantitative Analyse ausgeführt. Es wurde gefunden:

Gesamt Nicht-Eiweißstickstoff	. . . .	9,080 g
Davon	Ammoniakstickstoff	3,787 g
	Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff . . .	2,096 g
	Stickstoff in anderer Form . . .	3,197 g

Von 100 Teilen gesamt Nicht-Eiweißstickstoff sind vorhanden als:

Ammoniakstickstoff	41,71
Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	23,08
Stickstoff in anderer Form	35,21

Isolierung der organischen Basen.

Der Hauptteil der Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der

[1]) K. Yoshimura, Journ. of the College of Agriculture, Tokio, 1909, 1, Nr. 1, 87.

[2]) Die Herstellung derselben findet in folgender Weise statt: Gekochte und zerkleinerte Sojabohnen werden mit Kochsalzlösung vermischt und 1 bis 3 Jahre langsam gären lassen und zuletzt gepreßt.

Niederschlag wurde in bekannter Weise behandelt. Die so gewonnene stark alkalische Basenlösung wurde erst mit Salpetersäure neutralisiert und dann mit einer Silbernitratlösung versetzt, wobei ein brauner Niederschlag entstand, der wohl Purinbasen enthalten haben wird; die Menge desselben war aber so gering, daß er zur weiteren Untersuchung nicht ausgereicht hätte.

I. Die durch Silbernitrat und Barythydrat fällbaren Basen.

Das Filtrat vom Silbernitrat-Niederschlag wurde mit Silbernitrat und Barythydrat in geringem Überschuß versetzt. Der dabei entstandene dunkelbraune Niederschlag wurde, nach dem Auswaschen mit verdünntem Barytwasser, unter Zusatz von etwas Schwefelsäure durch Schwefelwasserstoff zersetzt.

Das Filtrat vom Schwefelsilber wurde, nachdem es im Wasserbade etwas eingeengt worden war, mittels Barythydrat von der Schwefelsäure befreit, durch Kohlensäure der überschüssige Baryt entfernt und dann im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedunstet.

Die so erhaltene alkalische Flüssigkeit wurde, nach Neutralisieren mit Salzsäure, im Vakuum-Exsiccator stehen gelassen, bis sie zu Sirup wurde; da sich hierbei nichts ausschied, löste man den Sirup in möglichst wenig Wasser, dann wurde er mit absolutem Alkohol versetzt und im Exsiccator stehen gelassen. Es schieden sich dabei farblose dünne Prismen aus, die in Wasser sehr leicht, in Alkohol schwer und in Äther fast unlöslich waren. Sie ergaben mit einer alkalischen Lösung von Diazobenzolsulfosäure die Paulysche Reaktion; die Biuretreaktion fiel indessen negativ aus, was das Präparat also vom Histidin unterschied. Die Ausbeute betrug ca. 0,3 g; im Capillarrohre erhitzt, schmolz es bei 235° (unkorr.).

0,1025 g Substanz ergaben 0,02305 g N.

	Gefunden:	Berechnet für β-Imidazolyläthylaminchlorhydrat ($C_5H_9N_3 \cdot 2HCl$):
N	22,49 %	22,83 %

Das Platindoppelsalz: Einen Teil des Chlorides führte ich durch Zugabe von einer Platinchloridlösung in das Platinat über, das aus ziemlich großen, dunkelroten rhombischen Krystallen bestand und in kaltem Wasser sehr schwer löslich war.

Im Capillarrohre erhitzt, fing das Präparat bei 240° (unkorr.) an, sich grauschwarz zu färben, ohne indessen zu schmelzen.

0,1560 g Substanz ergaben 0,05860 g Pt.

Gefunden:	Berechnet für β-Imidazolyläthylamin-chlorplatinat ($C_5H_9N_3 . 2HCl . PtCl_4$):
Pt 37,57%	37,44%

Das Pikrat: Zur Darstellung vom Pikrat wurde ein anderer Teil des Chlorides in einer kleinen Menge Wasser gelöst und mit einer konzentrierten Natriumpikratlösung versetzt, wobei sich tiefgelbe glänzende rhombische Tafeln ausschieden, die in heißem Wasser leicht, in kaltem Wasser und in Äther unlöslich waren. Im Capillarrohre erhitzt, schmolz es bei 230 bis 235° (unkorr.) unter Zersetzung.

II. Die durch Silbernitrat und Barythydrat nicht fällbaren Basen.

Die Mutterlauge vom Silbernitrat und Barythydrat-Niederschlage wurde nach dem Entfernen des Silbers durch Salzsäure und des Barytes durch Schwefelsäure, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Aus dem Phosphorwolframsäure-Niederschlag wurde in bekannter Weise eine stark alkalische Flüssigkeit der freien Basen gewonnen. Die Flüssigkeit wurde jetzt mit Salzsäure neutralisiert, hierauf in gelinder Wärme zum kleinen Volumen eingeengt und im Vakuum-Exsiccator stehen gelassen. Es schieden sich dabei einige Krystalle aus, der übrige Teil aber blieb Sirup.

Die ganze Masse ließ sich durch Behandeln mit absolutem Alkohol in folgende zwei Fraktionen trennen:

A. Die in absolutem Alkohol unlösliche Fraktion.

Der in absolutem Alkohol unlösliche Teil betrug ca. 1,5 g. Wird dieses salzsaure Salz mit absolutem Methylalkohol verrieben, so geht der Hauptteil in Lösung über, während ein Teil unlöslich bleibt.

1. Der in Methylalkohol unlösliche Teil.

(Putrescin oder Tetramethylendiamin.)

Der in Methylalkohol unlösliche Teil betrug ca. 0,45 g. Aus heißem Wasser umkrystallisiert, schied sich das Salz als

lange, farblose Nadeln aus, die in Wasser leicht löslich waren. Im Capillarrohre erhitzt, schmolz es allmählich bei über 290° (unkorr.):

0,1130 g Substanz ergaben 0,01971 g N
0,1201 g „ „ 0,05347 g Cl

Gefunden:	Berechnet für Tetramethylendiaminchlorhydrat ($C_4H_{12}N_2.2HCl$):
N 17,43%	17,39%
Cl 44,52%	44,10%

Das Platindoppelsalz: Wurde das salzsaure Salz in wenig Wasser gelöst, mit einer Platinchloridlösung versetzt und langsam eingeengt, so schied sich das Platinat als hellgelbe Plättchen oder Tafeln aus, die in kaltem Wasser ziemlich schwer, in Alkohol unlöslich waren. Im Capillarrohre erhitzt, schwärzte es sich bei 220 bis 225° (unkorr.).

0,2966 g Substanz ergaben 0,11600 g Pt.

Gefunden:	Berechnet für Tetramethylendiaminchlorplatinat ($C_4H_{12}N_2.2HCl.PtCl_4$):
Pt 39,11%	39,13%

Das Pikrat: Hellgelbe Prismen, ziemlich schwer löslich in kaltem Wasser; im Capillarrohre erhitzt wurde es bei 250° dunkelbraun und zersetzte sich bei 260° (unkorr.) unter Schäumen.

2. Der in Methylalkohol lösliche Teil.

(Kadaverin oder Pentamethylendiamin.)

Der in Methylalkohol lösliche Teil betrug ca. 0,9 g.

Das aus heißem Wasser umkrystallisierte Salz bildete farblose Nadeln, die im Capillarrohre bei 225 bis 230° (unkorr.) langsam schmolzen.

0,2104 g Substanz ergaben 0,08640 g Cl.

Gefunden:	Berechnet für Pentamethylendiaminchlorhydrat ($C_5H_{14}N_2.2HCl$):
Cl 41,06%	40,57%

Das Platindoppelsalz: Das Platinat lieferte beim Umkrystallisieren und langsamen Verdunsten seiner wässerigen Lösung große orangefarbige Prismen, die in kaltem Wasser schwer löslich waren. Im Capillarrohre erhitzt, schmolz es bei 230 bis 235° (unkorr.) unter Zersetzung.

Der Körper stimmte im Aussehen, auch unter dem Mikroskop, und im Schmelzpunkt mit dem aus dem Vergleichspräparat von E. Merck auf gleichem Wege erhaltenen Platinat überein.

0,3900 g Substanz ergaben 0,14800 g Pt.

Gefunden:	Berechnet für Pentamethylendiaminchlorplatinat ($C_5H_{14}N_2.2HCl.PtCl_4$):
Pt 37,95%	38,06%

Das Pikrat: Gelbe Prismen oder langgestreckte Tafeln, die in kaltem Wasser schwer löslich waren; der Schmelzpunkt liegt bei 225 bis 230° (unkorr.).

0,2010 g Substanz ergaben 0,04225 g N
0,2230 g „ „ 0,15570 g Pikrinsäure

Gefunden:		Berechnet für Pentamethylendiaminpikrat ($C_5H_{14}N_2.2C_6H_3N_3O_7$):
N . . .	21,02%	21,15%
Pikrinsäure	69,82%	69,18%

B. Die in absolutem Alkohol lösliche Fraktion.

Die alkoholische Lösung wurde in gelinder Wärme zu dünnem Sirup eingeengt und im Vakuum-Exsiccator eine Woche stehen gelassen. Da sich aber keine Krystalle ausschieden, wurde sie ins Pikrat verwandelt. Das aus heißem Wasser umkrystallisierte Pikrat bestand aus hellgelben Prismen, die in kaltem Wasser schwer und in Alkohol löslich waren; der Schmelzpunkt liegt bei 215 bis 216° (unkorr.). Die Ausbeute betrug etwa 1,2 g.

Das Platindoppelsalz: Um das Pikrat in Platinat zu verwandeln, wurde es in wenig Wasser gelöst, Salzsäure zugegeben, von der ausgeschiedenen Pikrinsäure getrennt und mit Äther wiederholt geschüttelt, bis die Flüssigkeit ganz farblos wurde. Die wässerige Lösung wurde dann im Wasserbade verdampft, eine Platinchloridlösung zugesetzt und nochmals langsam eingeengt. Nach dem Stehen im Vakuum-Exsiccator schied sich das Platinat in Form charakteristischer regulärer orangefarbiger Krystalle aus, die sich bei 230° (unkorr.) zersetzten, in kaltem Wasser ziemlich schwer und in absolutem Alkohol fast unlöslich waren.

0,3160 g Substanz ergaben 0,11620 g Pt.

Gefunden:	Berechnet für Trimethylaminchlorplatinat $\{[N(CH_3)_3.HCl]_2.PtCl_4\}$:
Pt 36,77%	36,90%

Zusammenfassung der Resultate.

Nach vorstehendem konnte ich aus gefaulten Sojabohnen (1 kg lufttrocknes Material) folgende Basen isolieren:

β-Imidazolyläthylamin	ca. 0,18 g
Tetramethylendiamin (Putrescin) .	„ 0,25 g
Pentamethylendiamin (Kadaverin)	„ 0,53 g
Trimethylamin	„ 0,23 g
Ammoniak (NH_3)	4,60 g
Histidin	nicht vorhanden
Arginin	„ „
Lysin	„ „

Beitrag zum Verhalten der Diastase im Blut und im Urin beim Kaninchen.

Von

Goichi Hirata, Okayama.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des pathologischen Instituts der Kgl. Universität Berlin.)

(Eingegangen am 6. Juli 1910.)

Das Verhalten der Diastase im Blut und im Urin beim Kaninchen ist in letzter Zeit von Wohlgemuth[1]) einer eingehenden Untersuchung unterzogen worden mit dem Resultat, daß die Diastasemengen im Blut ziemlich konstant sind und auch unter pathologischen Bedingungen, wie beispielsweise nach Phlorizin- und Phloretininjektionen und bei der Adrenalinglucosurie, sich nicht wesentlich ändern. Für den Kaninchenurin wurde festgestellt, daß die Diastasemenge in ihm stets geringer ist als im Blut, und daß sie keine großen Schwankungen zeigt, wenn die Urinmenge eine konstante ist; auch war die Reaktion des Harns ohne Einfluß auf den Ausfall der Werte. Gleichzeitig wurde gefunden, daß menschlicher Harn, der von Nephritikern stammte, stets weit geringere Mengen an Diastase aufzuweisen hatte als der von normalen Individuen produzierte Urin. Hiernach schien es interessant, am Kaninchen die entsprechenden Verhältnisse im Urin sowohl wie im Blut zu untersuchen unter dem Einfluß einer Nephritis. Zur Erzeugung einer

[1]) Diese Zeitschr. 21, 381 und 432, 1909.

experimentellen Nephritis beim Kaninchen stehen uns eine Reihe von Mitteln zu Gebote. Aus der großen Zahl habe ich nur drei herausgegriffen, das Sublimat, Chrom und Uran und mehreren Tieren ganz bestimmte Quantitäten des Giftes injiziert und nun von Tag zu Tag das Blut sowohl wie den Urin auf ihren Diastasegehalt untersucht. Das Blut wurde stets aus der Ohrvene entnommen und der Urin meist durch Exprimieren der Blase gewonnen. Als Methode der Diastasebestimmung bediente ich mich der von Wohlgemuth[1]) angegebenen, die sich auch für die Urinuntersuchung vorzüglich eignet.

Die Versuchsanordnung wählte ich so, daß mehrere annähernd gleich schwere Tiere 3 Tage vor der Vergiftung täglich auf ihren normalen Gehalt an Diastase im Blut und im Urin untersucht wurden, dann durch subcutane Injektion eine bestimmte Giftmenge appliziert bekamen und nun weiter täglich stets zur selben Tageszeit Blut und Urin auf ihren Diastasegehalt geprüft wurden, bis der Tod des Tieres eintrat. Das Futter der Tiere bestand regelmäßig in Rüben, Hafer und Heu.

Es seien zunächst die Versuche mit Sublimatvergiftung mitgeteilt.

Tabelle Ia.

Spontane Albuminurie und Sublimatnephritis.

Nr. 1. Kaninchen, Gewicht 1600 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 160	$D^{38^0}_{24^h}$ 20	
2.	„ 320	„ 20	
3.	„ 160	„ 40	
4.	„ 160	„ 80	Am 4. Tage spontane Albuminurie, ohne Zylinder im Harn
5.	„ 320	„ 80	
6.	„ 320	„ 40	
7.	„ 320	„ 40	
8.	„ 160	„ 40	Am 8. Tage Vergiftung mit Sublimat (0,01 g pro Kilogramm Körpergewicht) subcutan, unmittelbar vorher wurden Urin und Blut frisch entnommen
9.	„ 40	„ 80	
10.	„ 40	„ 80	
11.	„ 20	„ 80	
12	„ 5	„ 80	

[1]) Diese Zeitschr. 9, 1, 1908.

Tabelle Ib.

Spontane Albuminurie und Sublimatnephritis.

Nr. 2. Kaninchen, Gewicht 2100 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 160	$D^{38^0}_{24^h}$ 20	
2.	„ 160	„ 20	
3.	„ 160	„ 20	
4.	„ 160	„ 40	Am 4. Tage spontane Albuminurie, ohne Zylinder im Urin
5.	„ 80	„ 40	
6.	„ 160	„ 40	
7.	„ 160	„ 20	
8.	„ 80	„ 20	Am 8. Tage Vergiftung mit Sublimat (0,01 g pro Kilogramm Körpergewicht) subcutan, unmittelbar vorher wurden Blut und Urin frisch entnommen
9.	„ 40	„ 40	
10.	„ 10	„ 80	
11.	„ 5	„ 80	
12.	„ 20	„ 80	

Tabelle Ic.

Spontane Albuminurie und Sublimatnephritis.

Nr. 3. Kaninchen, Gewicht 1700 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 160	$D^{38^0}_{24^h}$ 20	
2.	„ 320	„ 20	
3.	„ 160	„ 20	
4.	„ 320	„ 40	Am 4. Tage spontane Albuminurie, ohne Zylinder im Harn
5.	„ 80	„ 80	
6.	„ 320	„ 40	
7.	„ 160	„ 20	
8.	„ 160	„ 20	Am 8. Tage Vergiftung mit Sublimat (0,01 g pro Kilogramm Körpergewicht) subcutan, unmittelbar vorher wurden Blut und Urin frisch entnommen
9.	„ 40	„ 40	
10.	„ 10	„ 40	
11.	„ 5	„ 80	
12.	„ 10	„ 80	

Wie aus den Tabellen ersichtlich, wurden in den ersten 3 Tagen der Vorperiode sowohl bezüglich der Diastase im Urin wie im Blut gut übereinstimmende Werte gefunden.

Am 4. Tage zeigten plötzlich sämtliche 3 Tiere Albuminurie. Woher dieselbe stammt, ob sie als eine lordotische aufzufassen ist, herrührend von der Lagerung der Tiere beim Exprimieren der Blase, oder ob ihr eine andere Ursache zugrunde liegt, hat

sich nicht feststellen lassen. Unter dem Einfluß der Albuminurie schien der Diastasegehalt im Blut zu steigen, während sich im Harn keine so großen Schwankungen bemerkbar machten. Nachdem die Tiere so 5 Tage lang beobachtet und untersucht worden waren, wurden sie in der angegebenen Weise mit Sublimat vergiftet. Unter dem Einfluß der sich nun entwickelnden Nephritis sehen wir in sämtlichen 3 Fällen den Diastasegehalt des Harns auf ein Minimum zurückgehen, während die Diastasemenge im Blut deutlich, wenn auch nicht so erheblich ansteigt.

Versuche mit Uranvergiftung.

Tabelle IIa.

Urannephritis.

Nr. 4. Kaninchen, Gewicht 2800 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 40	$D^{38^0}_{24^h}$ 40	
2.	„ 80	„ 40	
3.	„ 80	„ 40	Am 3. Tage subcutane Injektion von 0,01 g Urannitrat pro Kilogramm Körpergewicht, unmittelbar vorher wurden Blut und Urin frisch entnommen
4.	„ 160	„ 40	
5.	„ 320	„ 80	
6.	„ 40	„ 80	
7.	„ 20	„ 160	
8.	„ 20	„ 160	
9.	„ 10	„ 160	

Tabelle IIb.

Urannephritis.

Nr. 5. Kaninchen, Gewicht 2500 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 160	$D^{38^0}_{24^h}$ 40	
2.	„ 160	„ 40	
3.	„ 160	„ 80	Am 3. Tage subcutane Injektion von 0,01 g Urannitrat pro Kilogramm Körpergewicht, unmittelbar vorher wurden Blut und Urin frisch entnommen
4.	„ 20	„ 80	
5.	„ 80	„ 160	
6.	„ 80	„ 80	
7.	„ 10	„ 160	
8.	„ 10	„ 160	
9.	„ 5	„ 160	

Hier war die Versuchsanordnung die gleiche wie vorhin: Die Tiere wurden 3 Tage vorher beobachtet und ihr Blut und

Harn auf den Diastasegehalt untersucht und dann in der angegebenen Weise mit Urannitrat vergiftet. Dabei zeigte sich, daß während der Vorperiode Blut und Urin nur geringe Schwankungen in ihren Diastasemengen zeigten, nach der Injektion mit fortschreitender Nephritis die Diastase im Urin erheblich abnahm, im Blute dagegen ganz beträchtlich zunahm.

Versuche mit Chromvergiftung.

Tabelle III a.

Chromsäurenephritis.

Nr. 6. Kaninchen, Gewicht 2000 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 160	$D^{38^0}_{24^h}$ 40	
2.	„ 320	„ 40	
3.	„ 80	„ 40	Am 3. Tage subcutane Injektion von 0,02 g pro Kilogramm Körpergewicht, unmittelbar vorher Entnahme von Blut und Urin
4.	„ 320	„ 80	
5.	„ 320	„ 80	
6.	„ 80	„ 80	
7.	„ 20	„ 80	
8.	„ 10	„ 160	

Tabelle III b.

Chromsäurenephritis.

Nr. 7. Kaninchen, Gewicht 1700 g.

Tag	Urin	Blut	Besondere Bemerkungen
1.	$D^{38^0}_{24^h}$ 160	$D^{38^0}_{24^h}$ 40	
2.	„ 80	„ 80	
3.	„ 80	„ 40	Am 3. Tage subcutane Injektion von 0,02 g pro Kilogramm Körpergewicht, unmittelbar vorher Entnahme von Blut und Urin
4.	„ 160	„ 80	
5.	„ 80	„ 80	
6.	„ 80	„ 80	
7.	„ 20	„ 160	

Auch hier wurde in der gleichen Weise verfahren wie vorhin, indem die Tiere 2 Tage vorher auf ihren Diastasegehalt im Urin und Blut untersucht wurden und am 3. Tage das Gift in der angegebenen Menge injiziert bekamen, nachdem ihnen noch kurz zuvor Blut und Urin entnommen worden

war. Der Effekt war der gleiche wie bei der Vergiftung mit Urannitrat. Je intensiver die Nephritis sich entwickelte, um so geringere Mengen an Diastase traten im Urin auf und um so reicher an Diastase war das Blut. Am letzten Tage kurz vor dem Eintritt des Todes übertraf der Diastasewert des Blutes den der Vorperiode um das 4fache, während die Diastasemenge des Urins auf den 4. Teil des Anfangswertes zurückgegangen war.

Wir sehen somit in sämtlichen Versuchen, daß in sämtlichen drei Versuchsreihen die Nephritis eine Abnahme der Diastase im Urin bedingt. Dieselbe ist demnach aufzufassen als der Ausdruck einer Funktionschädigung des Nierenparenchyms. Je nachdem die Schädigung eine erhebliche oder eine kleine ist, ist die Diastasekonzentration des Urins mehr oder weniger stark herabgesetzt. Die Vermehrung der Diastase im Blut dürfte wohl nur als ein sekundäres Symptom aufzufassen und so zu deuten sein, daß das Blut sich der ihm von den Organen zugeführten Diastasemenge nicht mehr durch die Nieren entledigen kann, da die Eliminationsfähigkeit der Nieren gelitten hat.

Über Vakuumverdampfung.

Von

Jaroslav Hladík.

(Aus dem chemischen Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees in Wien.)

(Eingegangen am 8. Juli 1910.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Verdampfung von Flüssigkeiten resp. das Trocknen von Substanzen bietet bekanntlich oft große Schwierigkeiten, besonders wenn es sich z. B. um solche Körper handelt, die nicht ohne Gefahr der Zersetzung, Gerinnung, Explosion oder anderer unbeabsichtigter Veränderungen erhitzt werden dürfen. In diesem Falle muß man die Verdampfung im luftverdünnten Raume vornehmen, bei mäßiger Wärme, bei der die Tension der Dämpfe nur gering und die Verdampfung an und für sich langsamer ist. Um den Prozeß zu beschleunigen, muß die Tension, das heißt der Druck der verdampften Flüssigkeit, die im geschlossenen Gefäße ein weiteres Verdampfen verhindern würde, fortwährend möglichst schnell entfernt werden, was die zur Vakuumverdampfung gebräuchlichen Apparate durch beständiges Absaugen der Dämpfe besorgen. Nach eigenen Erfahrungen geschieht dies aber erfolgreicher und schneller, wenn man die entstandenen Dämpfe durch sofortige Kondensation an der Innenseite einer gekühlten Glocke niederschlägt und ableitet, wie dies in dem weiterhin näher beschriebenen Apparate bewirkt wird. Dieser besteht aus einem schüsselförmigen, in der Mitte vertieften Becken, auf dem ein Glassturz ruht; er liegt auf einem Dreifuß auf, der auch das Wasserbad trägt, in das die Vertiefung eintaucht. In die Vertiefung (Verdampfungspfanne *a*) (Fig. 1) wird die zu verdampfende oder zu trocknende Substanz gegeben resp. eine dieselbe enthaltende Glasschale. Am Rande der Vertiefung erhebt sich ein kreisförmiger Aufsatz oder Sockel *b*, auf dem die Glasglocke *c* luftdicht aufsitzt. An der Innenseite ist dieser Sockel durch einen Blechstreifen *d* erhöht, so daß dieser mit der Glasglocke eine Rinne *e* bildet, in der die an den Innenwänden der Glocke sich niederschlagenden Dämpfe als Flüssigkeit gesammelt und durch einen Kanal zum Hahn *f* abgeleitet werden. Den Hals der Glasglocke umgibt ein an der Unterseite mit Öffnungen versehener Ring *g*;

aus dem Leitungswasser fließt und die Glasglocke bespült. Das Wasser sammelt sich dann zunächst im peripheren Teile des Apparates zwischen der Glasglocke und dem ziemlich hohen Rande des Beckens *h* an, wobei es den unteren Teil der Glasglocke sowie auch den Abflußkanal *i* gut kühlt, und fließt durch das Überlaufrohr *k* ab.

Fig. 1.

Eine besondere Konstruktion weist auch das beigegebene Wasserbad auf. Es besteht aus einem kurzen zylindrischen Kupfergefäße *l*, das die Verdampfungspfanne *a* von außen umgibt und in dieser Lage durch einen mit starkem Draht überzogenen Ring *m* festgehalten wird. Am Boden des Wasserbades läuft ein Kupferrohr, das in der Nähe einer Seitenwand beginnt, dann die gegenüberliegende Wand durchdringt, mit einer Erweiterung nach oben umbiegt und wieder an einer höheren Stelle dieser Wand einmündet. Stellt man einen Brenner unter den vertikalen Teil dieses Rohres (Fig. 2), so wird das Wasserbad durch entsprechende Regulierung des Gashahnes infolge Zirkulation des Wassers allmählich erwärmt und auf beliebiger Temperatur konstant erhalten werden. Das Wasserbad ist außerdem mit einem schiefen Ansatzrohre (Fig. 2) versehen, durch das man Wasser einfüllen und ein Thermometer einlegen kann. Wenn man das Wasserbad stärker erhitzen will, stellt man den Gasbrenner direkt unter dasselbe.

An dem Dreifuße, der den ganzen Verdampfer trägt, ist einer der Füße mit einer Stellschraube *n* versehen, durch deren Drehung der Apparat leicht so schräg geneigt werden kann, daß die kondensierte Flüssigkeit in der Rinne *e* gegen den Abflußkanal *i* zusammenläuft. Der

Hahn *f* ist mit einer graduierten starkwandigen, zur Aufnahme der verdampften Flüssigkeit bestimmten Flasche durch einen kurzen Schlauch, Glasrohr und Gummistöpsel (Fig. 2) verbunden; ein zweites kurzes Rohr führt von dem letzteren zu einem Vakuumschlauch und von diesem durch ein T-Rohr einerseits zu einem Manometer, andrerseits zur Vakuumpumpe.

Fig. 2.

Sobald in der Glocke ein entsprechendes Vakuum vorhanden ist, das Wasserbad auf die gewünschte Temperatur gebracht und die Wasserkühlung in Gang gesetzt wurde, bemerkt man, daß die Innenwand der Glasglocke sich mit feinen Tröpfchen beschlägt, die sich bald zu größeren Tropfen vereinigen und in die Rinne *i* herabfließen. Ist einmal das gewünschte Vakuum und damit ein bestimmter Siedepunkt erreicht, so ist weiterhin die Pumpe überflüssig und wird abgestellt, denn der Druck im Innern des Apparates bleibt durch die fortwährend stattfindende Kondensation der Dämpfe gleich. Jedem Druck entspricht bekanntlich ein bestimmter Siedepunkt, was z. B. aus den Tafeln der Tensionen des Wasserdampfes ersehen werden kann, und wenn auch die Tension des Wasserdampfes über Lösungen verschiedener Substanzen und verschiedener Konzentrationen nicht gleich ist, so hat man doch einen Anhaltspunkt in der Tensionstafel darüber, welche Temperatur man ungefähr erzielen muß, damit die Flüssigkeit siede, wenn man mit der Pumpe ein gewisses Vakuum erzeugt hat. Bei 30° C beträgt z. B. die

Tension des Wasserdampfes 31,51, bei einem Drucke von 31,51 mm Hg würde daher reines Wasser bei 30° C sieden. Es wird daher meist nicht notwendig sein, im Innern des Apparates ein Thermometer anzubringen, das die Temperatur der verdampfenden Flüssigkeit anzeigt. Dem Verdampfer ist aber für alle Fälle eine Thermometerklemme beigegeben, die an dem die Sammelrinne *e* innen begrenzenden Rande *d* festhält.

Das Verdampfen viscider Flüssigkeiten braucht nicht bis zur Staubtrockne vorgenommen zu werden, denn wenn solche Substanzen so weit getrocknet sind, daß sie fest zu sein scheinen, verlieren sie den Rest des Wassers meist auch schon an der Luft oder im Exsiccator über Schwefelsäure sehr bald. Ob ein ausreichender Trockenheitsgrad erreicht ist, kann man schon an der Menge des in der Vorlage angesammelten und an den Innenwänden der Glocke haftenden Wassers beurteilen, wenigstens bei bekannten Substanzen, so hat ja z. B. Hühnereiweiß einen Feuchtigkeitsgehalt von ca. 85%, Blutserum von ca. 90%. Manche Flüssigkeiten wie Milch bilden beim Trocknen an der Oberfläche Häute, die das weitere Verdampfen von Wasser verhindern, ein Übelstand, den man dadurch beseitigt, daß in der Öffnung des Gummistöpsels der Glasglocke ein gut schließender, unten abgebogener Glasstab *p* angebracht wird, durch dessen Drehung man teilweise die Häute verschieben oder zerreißen kann. Wenn man solche Substanzen trocknet, an deren Oberfläche sich hierbei hornartige dicke Häute bilden, unter denen Flüssigkeitsreste zurückbehalten werden und nicht weiter ihr Wasser abgeben können, empfiehlt es sich überhaupt, nach Verdampfung der Hauptmasse des Wassers, wenn die Substanz schon anfängt fest zu werden, den Prozeß zu unterbrechen, die Schale herauszunehmen und, bevor man weiter trocknet, mit einem Spatel aufzurühren und umzuwenden.

Unangenehm bemerkbar macht sich beim Verdampfen im Vakuum der Umstand, daß manche Flüssigkeiten dabei unregelmäßig sieden oder sogar heftig stoßen, wie z. B. Wasser, wenn es bei 30 mm Hg-Druck und 30° C Temperatur gehalten wird; in diesen Fällen bewähren sich als Siedespäne sehr gut Platindrähte, die auch den Vorteil haben, daß man sie aus den trocknen Substanzen leicht herausziehen kann.

Nach beendetem Trocknen sperrt man den Zufluß des Kühlwassers, läßt das Wasser durch den Hahn *O* ab, läßt Luft z. B. durch den vor der Pumpe befindlichen Glashahn einströmen und kann die Glasglocke entfernen.

Das Arbeiten mit diesem Apparate ist wegen der raschen Verdampfung, der Möglichkeit, die Verdampfungstemperatur genau zu regulieren, und wegen des durch das Kühlwasser garantierten guten Luftabschlusses recht bequem. Der Apparat eignet sich z. B. sehr gut zur schnellen Trocknung organischer Präparate, die in einer Krystallisierschale in den Verdampfer eingelegt werden können; er hat sich auch bei schwer zu trocknenden Flüssigkeiten, wie Eiweißlösungen, Blut usw., sehr gut bewährt.

So trockneten:

132 g Hühnereiweiß bei durchschn. 30° C Temp. und 30 mm Hg-Druck in $7^1/_2$ Stunden,

85 g Hühnerdotter „ „ 34° C „ „ 40 mm Hg-Druck in 5 Stunden,

250 g Milch „ „ 30° C „ „ 30 mm Hg-Druck in 5 Stunden,

180 g Schweineblutser. „ „ 36° C „ „ 45 mm Hg-Druck in 12 Stunden,

welche Substanzen sich dabei in einer im Verdampfungskessel liegenden Glasschale befanden, während in einem Vakuumverdampfungsapparate, wie er für Laboratoriumszwecke gewöhnlich konstruiert ist (ohne Kühlung der Glasglocke), 89 g Hühnereiweiß bei 38° C Temperatur und 50 mm Hg-Druck $15^1/_2$ Stunden zum Trocknen benötigten.

Verfahren und Apparat sind patentiert. Der Apparat wird von der Firma W. J. Rohrbecks Nachf., Wien I, erzeugt.

Über Oxalsäurebildung im Organismus.

Von

H. Jastrowitz.

(Aus der medizinischen Poliklinik der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 8. Juli 1910.)

Trotz der zahlreichen Untersuchungen, die über die Herkunft der Oxalsäure bereits vorliegen, sind die eigentlichen Quellen derselben nur bis zu einem gewissen Grade und nicht mit völliger Sicherheit bekannt. Man kann analog der Harnsäure eine exogene Oxalsäure, die von der Art der Nahrung abhängig ist, und eine endogene, im Körper selbst entstehende, unterscheiden. Erstere ist bei oxalatreicher, d. h. Gemüsekost, sowie eiweißreicher am höchsten, am niedrigsten bei Kohlenhydrat- und Fettfütterung. Nachdem schon Mills[1]) das Entstehen von Oxalsäure aus Eiweiß im tierischen Organismus wahrscheinlich gemacht hatte, lieferte Lüthje[2]) den direkten Beweis für die Existenz einer endogenen Oxalsäure bei einem Hund, dessen tägliche Ausscheidung in der zweiten Hungerwoche noch ca. 9 mg betrug. Die Totalmenge der vom erwachsenen Menschen ausgeschiedenen Oxalsäure schwankt bei gewöhnlicher Kost um ca. 15 mg pro Tag,[3]) bei oxalsäurefreier Kost sind dann bei weitem niedrigere Werte gefunden worden, sie gehen bis auf ca. 3 mg und weniger herab.[4]) Mit den älteren unsicheren Methoden sind weit höhere Zahlen angegeben worden. Auch sah man in dem mehr oder minder reichlichen Auftreten von Oxalatkrystallen im Harnsediment einen Maßstab für die Größe der Oxalsäureausscheidung.

---

[1]) W. Mills, Virchows Archiv 99, 305, 1885.
[2]) Lüthje, Zeitschr. f. klin. Med. 35, 271, 1898.
[3]) Autenrieth und Barth, Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 327, 1902.
[4]) Mohr und Salomon, Arch. f. klin. Med. 70, 486.

Schon Fürbringer[1]), dessen Arbeit einen großen Teil der älteren Literatur enthält, hat diese Auffassung entkräftet, so daß die Menge der Krystalle im Sediment nur als ein sehr unsicherer Anhaltspunkt für die wirklich ausgeschiedene Menge der Oxalsäure gelten darf. Mit dem Versagen dieses Wertmessers und mit der Verbesserung der Methodik durch Salkowski[2]) sowie Autenrieth und Barth (l. c.), verlor die Oxalsäure ihre etwas mystische pathologische Bedeutung, zumal man auch von dem klinischen Bilde der Oxalurie mit seinem vieldeutigen Symptomenkomplex, wie es von Prout[3]) in Frankreich und Benecke[3]) in Deutschland aufgestellt worden war, allgemein zurückkam. So wird denn wohl heute die Oxalurie kaum noch als selbständige Erkrankung angesehen.

Trotzdem entbehrt die Oxalsäure infolge ihrer mannigfachen Beziehungen zu Eiweißkörpern und Kohlenhydraten nicht eines gewissen Interesses, zumal man erwarten durfte, daß bei entsprechenden Stoffwechselanomalien, wie Gicht und Diabetes, wo die normale Oxydation daniederliegt, die Oxalsäure als hypothetisches Zwischenprodukt in vermehrter Menge auftreten würde. Indessen hatten die verschiedenartigen, in dieser Richtung angestellten Untersuchungen, auf die weiter unten, soweit sie hier in Betracht kommen, eingegangen wird, ein sehr verschiedenes, zum Teil widersprechendes Ergebnis.

Die folgenden Versuche suchten daher einige weitere Anhaltspunkte für die Beziehungen einzelner Eiweißderivate — Harnsäure und den der Oxalsäure im System nahestehenden Aminodicarbonsäuren — zur Oxalsäure zu gewinnen. Um etwaige Beziehungen zu den Kohlenhydraten festzustellen, wurde die Oxalsäureausausscheidung an 2 Fällen von schwerem Diabetes verfolgt.[4])

Bevor ich auf die Versuche selbst eingehe, will ich hier kurz einiges über die Methodik der Bestimmung anfügen. Ich habe die Methode von Autenrieth und Barth (l. c.) angewandt, die ich der ursprünglichen Salkowskischen (l. c.) vorzog, da nach dessen eigenen Angaben bei der Konzentration von Urin mit Salzsäure eine Vermehrung der Oxalsäure auftritt, von der es immerhin fraglich erscheinen kann, ob sie ausschließlich auf eine

---

[1]) Fürbringer, Arch. f. klin. Med. 18, 143, 1876.

[2]) Salkowski, Zeitschr. f. phys. Chem. 29, 437, 1900.

[3]) Prout und Benecke, zit. nach Mohr und Salomon.

[4]) Ich habe dieselbe längere Zeit gemeinsam mit Dr. Beuttenmüller von anderen Gesichtspunkten aus beobachtet, worüber demnächst ausführlich berichtet werden wird.

Abspaltung aus Oxalursäure zu beziehen sein dürfte. Namentlich traf dieses Bedenken für die Kolaturen der verwendeten Organextrakte zu, die, wenn auch vorher durch Essigsäure enteiweißt, möglicherweise noch Substanzen enthalten konnten, aus denen eine Oxalsäureabspaltung denkbar wäre. Hugh Mc Lean[1]) hat dann neuerdings behauptet, daß bei der Methode von Autenrieth und Barth ca. 25 % der Oxalsäure mit den Phosphaten nicht ausgefällt würden. In einem Versuch, den ich anstellte, gelang es mir indessen nicht, im Filtrate des Oxalat-Phosphatniederschlages nach Eindampfen mit Salzsäure mit Sicherheit Oxalsäure nachzuweisen. Auch würde der Nachweis derselben die oben angeführten Bedenken nicht zerstören, selbst wenn kleine Mengen Oxalsäure, wie anzunehmen, im Filtrate gelöst blieben. Sehr störend empfand ich in meinen Versuchen die Beimengung von Fettsäuren und Farbstoff. Dies nötigte mich häufig dazu, entweder, wie Salkowski empfiehlt, nach dem Ansäuern des Ätherextraktes mit Essigsäure zu filtrieren oder den ersten Oxalatniederschlag wiederum in Salzsäure zu lösen und ihn durch nochmaliges Ausäthern und Fällen zu reinigen.

In diesen Mängeln der Methodik beruht ja auch zum Teil die Schwierigkeit für die Beantwortung der Frage nach der Herkunft der Oxalsäure. Die kleinen Mengen, in denen dieselbe nämlich, wie die Beobachtung zeigt, im Tierkörper auftritt, entziehen sich, wie oben erwähnt, durch die wenn auch geringe Löslichkeit des oxalsauren Kalkes in Wasser und verdünnter Essigsäure noch zu einem Teile dem Nachweis. Das Vorkommen so geringer Mengen liegt in der hohen Empfindlichkeit des tierischen Organismus gegen Oxalsäure begründet — schwankt doch nach von Jacksch[2]) die Dosis letalis zwischen 1,25 und 7 g für den erwachsenen Menschen. Mithin dürfte wohl das Bestreben vorhanden sein, bei Oxydationsprozessen etwa auftretende Oxalsäure möglichst rasch wieder zu zerstören oder durch Paarung (Oxalursäure) unschädlich zu machen.

Versuche über Oxalsäurebildung aus Harnsäure.

Während eine große Anzahl fast ausschließlich übereinstimmende Untersuchungen vorliegen, die nach Zufuhr von Ge-

[1]) Hugh Mc Lean, Zeitschr. f. phys. Chem. 60, 20.

[2]) v. Jacksch, Die Vergiftungen. Leipzig und Wien 1904, S. 45.

latine oder deren Derivat Glykokoll, wie dies für die Oxydation in vitro bereits von Kutscher und Schenk[1]) gezeigt wurde, eine Steigerung der Oxalsäureausfuhr nachweisen konnten,[2]) sind die Resultate bezüglich der Bildung aus Harnsäure und Nucleinsubstanzen nicht so eindeutig. Auf die Möglichkeit einer derartigen Entstehung haben zuerst Wöhler und Frerichs[3]) hingewiesen und einen Verfütterungsversuch von Ammoniumurat mit positivem Resultate (Oxalatkrystalle im Harnsediment) unternommen.

Die zahlreichen in der Folge angestellten Untersuchungen zeitigten indessen verschiedene Ansichten; so fanden z. B. Lommel und Rosenqvist[4]) eine beträchtliche Steigerung der Oxalsäure nach Thymusgaben, wogegen Luzzatto[5]) sowie Stradomsky[6]) und Lüthje ein im wesentlichen negatives Resultat hatten; auch Mohr und Salomon konnten bei ihren Versuchen an Kranken eine Entscheidung in dieser Frage nicht herbeiführen. Harnsäuregaben selbst blieben ohne Einfluß auf die Oxalsäureausscheidung. (Fürbringer, Klemperer und Tritschler.)

Da, wie schon oben angeführt, der Organismus etwa als intermediäres Stoffwechselprodukt entstandene Oxalsäure möglichst rasch wieder zerstören muß, so suchte man dieser Frage näher zu kommen durch Digestionsversuche mit Organen. Es seien hier nur diejenigen von Salkowski[7]) (Oxalsäurebildung in der Leber), Cippolina[8]) sowie die jüngst von Tomaszewski[9]) publizierten erwähnt. Ersterer Autor, dem wir eine Reihe von Daten über den Oxalsäuregehalt von Nahrungsmitteln und Organen verdanken, kam bei seinen Untersuchungen

---

[1]) Kutscher und Schenk, Zeitschr. f. phys. Chem. 43, 337.

[2]) Vgl. Mohr und Salomon, l. c., sowie Lommel, Arch. f. klin. Med. 63, 599. — Klemperer und Tritschler, Zeitschr. f. klin. Med. 44, 337.

[3]) Wöhler und Frerichs, Annal. d. phys. Chem. 65, 340.

[4]) Rosenqvist, Nord. med. Ark., Abt. 2., Anh., S. 174; zit. nach Minkowski in v. Leyden, Ernährungstherapie, 2. Aufl., 1904, S. 307.

[5]) Luzzatto, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 225.

[6]) Stradomsky, Virchows Archiv 163, 404.

[7]) Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1900, 434.

[8]) Cippolina, Berl. klin. Wochenschr. 1901, 544.

[9]) Tomaszewski, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 7, 215.

an menschlichen und tierischen Organen zu dem Resultate, daß in Leber, Milz und Muskel eine Oxalsäurebildung stattfände. Tomaszewski hatte bei seinen analog den Schittenhelmschen urikolytischen Versuchen angestellten Experimenten ein ähnliches Ergebnis.

Um den Einwand, daß die Digestion mit Organbrei überhaupt kein Analogon eines intravitalen Vorganges darstelle, möglichst zu entkräften, mußten frisch getötete Tiere verwandt werden. Aus diesem Grunde sah ich mich genötigt, die Untersuchungen an Organen von Hunden anzustellen, die unmittelbar vor dem Versuche zu diesem Zweck durch Verblutung getötet wurden. Erschwerend fiel für die Beurteilung der Resultate häufig die geringe Menge Organsubstanz, die für die Extrakte zu Gebote stand, und deren dadurch bedingte relativ geringe Wirksamkeit ins Gewicht.

Das sofort nach der Entnahme in der Hackmaschine unter Toluolzusatz zerkleinerte und mit gereinigtem Seesand verriebene Organ wurde mit der 5 bis 10fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung 8 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Hierauf wurde die Flüssigkeit in der Presse von den Rückständen und dem Sande befreit, nochmals koliert, je nach der Organmenge 0,15 bis 0,5 g Natrium uricum in Lösung zugesetzt und mit physiologischer Kochsalzlösung auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt.

Das harnsaure Natron zog ich der von Schittenhelm angewandten, in Normal-Natronlauge gelösten Harnsäure vor, weil, wie Wiener und Wiechowski[1]) angeben, die Harnsäure sich bei ganz geringem Alkalescenzgrade (0,2 $^0/_0$ Natriumcarbonat) in 2 Tagen bereits spontan zersetzt. In der einen Hälfte wurde sofort eine Oxalsäure- und Harnsäurebestimmung (nach Ludwig-Salkowski) vorgenommen, letztere nachdem die dazu bestimmte Flüssigkeitsportion mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure 6 Stunden lang auf dem Wasserbade am Rückflußkühler erhitzt war; für die Oxalsäurebestimmung wurde die Flüssigkeit durch Koagulation mit Essigsäure zuvor enteiweißt. Die andere Hälfte wurde bei 28° bis 30° 24 Stunden unter Luftzufuhr im Schüttelapparat belassen und dann dieselben Bestimmungen wie oben

[1]) Wiener und Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 247.

ausgeführt. Bei der Schwierigkeit und Unsicherheit der Experimente wurden mit jedem der zu prüfenden Organe zwei Versuche sowie ein blinder Versuch ohne Zusatz von harnsaurem Natron angestellt. Die Resultate sind in Tabelle I wiedergegeben.

Tabelle I.

Versuch-Nr.	Organmenge in g	Extraktmenge ccm	Natr. uric. zugesetzt g	Harnsäure vor dem Versuch g	Harnsäure nach dem Versuch g	Harnsäuredifferenz	Oxalsäure vor dem Versuch g	Oxalsäure nach dem Versuch g	Oxalsäuredifferenz
1	65 Niere	1200	0,3	0,352	0,089	− 0,263	0,0011	0,0015	+ 0,0004
2	130 „	2100	0,5	0,675	0,547	− 0,128	0,0020	0,0014	− 0,0006
3	225 Leber	1000	0,5	0,622	0,0	− 0,622	0,0019	0,0047	+ 0,0028
4	200 „	1000	0,5	0,770	0,313	− 0,457	0,0011	0,0037	+ 0,0026
5	290 „	1000	0,0	0,142	0,070	− 0,072	0,0022	0,0028	+ 0,0006
6	35 Milz	300	0,15	0,182	0,069	− 0,113	0,0009	0,0046	+ 0,0037
7	55 „	300	0,15	0,141	0,046	− 0,095	0,0012	0,0058	+ 0,0046
8	40 „	300	0,0	0,034	0,0	− 0,034	0,0010	0,0008	− 0,0002
9	350 Muskel	1000	0,3	0,595	0,137	− 0,458	0,0024	0,0050	+ 0,0026
10	165 „	750	0,3	0,438	0,108	− 0,330	0,0015	0,0036	+ 0,0021
11	250 „	800	0,0	0,110	0,0	− 0,110	0,0018	0,0010	− 0,0008

Es zeigte sich, daß die Hundeniere zwar in mäßigem Grade Harnsäure zersetzt, daß aber wesentliche Oxalsäuremengen hierbei nicht gebildet werden. Diese Tatsache steht mit dem relativ hohen Oxalsäuregehalt dieser Drüse (nach Cippolina 0,015 $^0/_0$) in einem gewissen Widerspruche, jedoch glaube ich demselben bei den großen Schwankungen, denen das Vorkommen der Oxalsäure unterliegt, kein besonderes Gewicht beilegen zu müssen, zumal ja die Oxalsäure kein wesentliches Produkt der Urikolyse, wie der Harnstoff, sondern nur ein Nebenprodukt bei diesem Vorgange darstellt. Ein positives Resultat zeigten die Versuche, die mit der Milz und in geringem Grade auch diejenigen, die mit Leber und Muskel vorgenommen wurden. Hierbei wurde eine verhältnismäßig starke Harnsäurezerstörung und eine gleichzeitige, jedoch derselben nicht parallel verlaufende Oxalsäurebildung festgestellt. Pro Kilogramm Organ betrug dieselbe innerhalb 24 Stunden im Durchschnitt für die Milz ca. 92 mg, für die Leber 12 mg, für die Muskeln 10 mg.

Dies stimmt auch mit den Versuchen, die von Tomaszewski gemacht sind, überein. Gerade die Milz scheint eine große Rolle bei der Oxalsäurebildung zu spielen, was aus der starken

Wirksamkeit der Milzextrakte, trotz der geringen Größe dieses Organes bei Hunden, hervorgeht. Bezüglich der Leber und der Muskeln, für die ich möglichst große Organmengen, ca. 200 bis 300 g für jeden Versuch, verwandte, ist gleichfalls eine Oxalsäurebildung mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen.

Im Anschlusse an diese Organversuche über Oxalsäurebildung aus Harnsäure habe ich bei 2 Kranken mit Anomalien des Nucleinstoffwechsels, bei einem Gichtiker und einem Leukämiker Untersuchungen in dieser Richtung angestellt. Der erste Versuch betraf einen 59jährigen Mann, der seit 6 Jahren über Schmerzen in den verschiedensten Gelenken klagte, der aber Schwellungen erst in den letzten 2 Jahren, und zwar in der großen Zehe, im linken Handgelenk und Handrücken und der Volarseite des linken Vorderarmes verspürt hatte. Objektiv bestand eine Rötung in der Gegend des Metacarpophalangealgelenkes der rechten großen Zehe sowie eine schmerzhafte Schwellung der rechten Mittelhand- und Handwurzelknochen, desgleichen an der Ulnarseite des Vorderarmes in einem Durchmesser von 10 cm; sonst keine wesentlichen Veränderungen der Gelenke und übrigen Organe. Während der Versuchsperiode erhielt der Patient eine purinfreie Kost, bestehend aus 2,0 l Milch, 4 Eiern, 4 Brötchen mit Butter und einem Brei. Die Beobachtung hatte bezüglich der Oxalsäureausscheidung ein negatives Resultat, sowohl in einer Vorperiode, wie in der Versuchszeit, wo dem Patienten 10 g hefenucleinsauren Natrons verabfolgt wurden. Im übrigen zeigte er das für Gichtiker typische Verhalten der Verlangsamung der Harnsäureausscheidung nach der Nucleindarreichung; eine wesentliche Verschiebung des Harnsäurezum Basenstickstoff (bestimmt nach Krüger und Schmid) findet sich nur am letzten Versuchstage, so daß demselben eine Bedeutung nicht beizumessen ist; über das nähere gibt Tabelle II Auskunft.

In dem zweiten Falle handelte es sich um einen 33jährigen Leukämiker, der seit ca. 1 Jahre wegen dieser Krankheit verschiedentlich behandelt wurde. Objektiv bestand eine geringe Vergrößerung der Leber sowie ein Milztumor, der den Rippenbogen um 23 cm überragte und 16 cm breit war. Im Urin fanden sich geringe Mengen Eiweiß ca. $^1/_2$ bis $1^1/_2$ p. m., mikroskopisch reichlich granulierte und hyaline Zylinder, Nieren-

Tabelle II.

Datum	Urinmenge	Spez. Gew.	Gesamt-N	Harnsäure g	Harnsäure-N	Basen-N	Harns.-N : Basen-N	Oxalsäure pro Tag	Bemerkungen
19. Juli	1320	1,020	12,04	0,1943	0,0647	0,0073	8,9 : 1		
20. „	1900	1,019	18,01	0,2202	0,0734	0,0105	7,0 : 1	0,0115	
21. „	1980	1,015	16,10	0,2439	0,0813	0,0120	6,8 : 1		
22. „	1510	1,018	14,21	0,2580	0,0853	0,0084	10,5 : 1		10 g hefe-
23. „	1630	1,020	15,85	0,3576	0,1158	0,0182	6,4 : 1		nucleinsau-
24. „	1400	1,028	15,26	0,7672	0,2557	0,0315	8,1 : 1	0,0158	res Natron
25. „	1290	1,021	13,83	0,2438	0,0813	0,0326	2,5 : 1		

epithelien und Leukocyten. Blutbefund: Hb = 40%, E = 1700000 und L = 72000. Das morphologische Bild war das einer myeloiden Leukämie. Tabelle III zeigt das Verhalten des Kranken bei purin- und oxalsäurefreier Kost. An den letzten 3 Versuchstagen wurde derselbe einer Behandlung mit Natrium kakodylicum und Röntgenbestrahlung der Milz unterworfen. Der Versuch zeigt, daß die Harnsäurewerte hoch normale bzw. leicht erhöhte (0,59 g pro Tag) sind, dagegen weist der Basenstickstoff und seine Relation zum Harnsäurestickstoff hier nichts Abnormes auf. Erhöht ist in mäßigem Grade die Oxalsäure zumal in der zweiten Periode (0,033 g pro Tag). Dieselbe täglich zu verfolgen war mir nicht möglich, da für die Oxalsäurebestimmung allein 0,5 l Urin verwandt werden mußte. In diesem Falle kann für die vermehrte Oxalsäureausscheidung nur der endogene Anteil derselben verantwortlich gemacht werden, da die Kost, wie schon oben erwähnt, oxalat- und purinfrei war.

Tabelle III.

Datum	Urinmenge	Spez. Gew.	Gesamt-N	Harnsäure g	Harnsäure-N	Basen-N	Harns.-N : Basen-N	Oxalsäure pro Tag	Bemerkungen
3. Juni	950	1,024	8,80	0,9660	0,3220	0,0644	5,0 : 1		
4. „	920	1,025	8,28	0,8771	0,2924	0,0364	8,0 : 1	0,0224	
5. „	860	1,022	7,56	0,6995	0,2332	0,0504	4,6 : 1		
6. „	900	1,027	8,38	0,5540	0,1850	0,0448	4,1 : 1		0,05 g Natr. kakodyl.
7. „	900	1,017	8,01	0,4739	0,1580	0,0224	7,0 : 1	0,0333	Röntgenbestrahlung
8. „	800	1,021	8,96	0,5964	0,1988	0,0252	7,8 : 1		

Bei den Schwankungen, die Leukämiker bezüglich ihres Blutbildes und demgemäß bezüglich ihrer Purinausscheidung

aufweisen, kann dieser Befund kein konstanter sein. So hat z. B. Rosenqvist (l. c.) eine Steigerung der endogenen Oxalsäure erhalten, während Mohr und Salomon ein negatives Ergebnis hatten. Ähnlich wie für die Leukämie liegen die Verhältnisse bei der Gicht. Der negative Befund im vorliegenden Falle spricht nicht gegen die Möglichkeit einer Entstehung der Oxalsäure als Nebenprodukt des Nucleinstoffwechsels. Entweder war diese Störung bei dem hier untersuchten Gichtiker keine so hochgradige oder es kommen dabei, ähnlich wie bei der Glucuronsäureausscheidung der Diabetiker mit abklingender Glucosurie unbekannte Faktoren in Betracht. So hatten auch schon Mohr und Salomon vergeblich bei der Gicht auf hohe Oxalsäurewerte gefahndet.

Versuche über Oxalsäurebildung mit den höheren Homologen und Aminodicarbonsäuren.

Nur wenige Untersuchungen haben sich bisher mit dem Einfluß der höheren Homologen der Oxalsäure auf die Ausscheidung dieses Körpers im Urin befaßt. So konnte Pohl[1]), der noch nach der Neubauerschen Methode mit einigen Modifikationen arbeitete, nur bei der Malonsäure eine geringe Erhöhung der Oxalsäureausscheidung konstatieren. Für die entsprechenden Aminosäuren, die Asparagin- und Glutaminsäure, liegen meines Wissens Ergebnisse in dieser Hinsicht noch nicht vor. Die folgenden Untersuchungen wurden am Hunde angestellt. Um nach Möglichkeit jede Bildung von Oxalsäure aus anderer Quelle auszuschließen, versuchte ich zuerst diese Experimente am Hungertier auszuführen. Die geringen Urinmengen, die bei absoluter Karenz ausgeschieden wurden, sowie die lange Dauer eines solchen fortlaufenden Versuches veranlaßten mich, davon abzustehen. Ich gab dem Tiere statt dessen täglich 1 l Milch (entsprechend 0,006 g Oxalsäure), die meist gänzlich genommen wurde. Die zu prüfenden Substanzen wurden per Magenschlauch gegeben, die Dicarbonsäuren, nachdem sie vorher mit Natrium bicarbonicum neutralisiert waren; die Aminosäuren mußten wegen ihrer Schwerlöslichkeit in Wasser suspendiert verabfolgt werden, da zu große Flüssigkeitsmengen

[1]) Pohl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 37, 413.

wegen einer etwaigen Störung des Versuches zu vermeiden waren. Die Substanzen wurden alle auf ihr Freisein von Oxalsäure qualitativ geprüft. Um bei den Experimenten überhaupt Ausschläge zu erzielen, wandte ich relativ große Dosen an, 10 g von jeder Substanz bei dem 9,5 kg schweren Versuchstier. Pohl hatte von der Malonsäure z. B. nur 2 g gegeben; vielleicht sind daraus auch gewisse Differenzen in unseren Resultaten zu erklären. Vergiftungserscheinungen habe ich nicht beobachtet. Schon Heymanns[1]) hat in Froschexperimenten auf die relative Ungiftigkeit der höheren Homologen der Oxalsäurereihe hingewiesen. Der Urin wurde täglich per Katheter entnommen und der Stickstoffgehalt sowie die Oxalsäure bestimmt. Die Resultate sind in Tabelle IV und V zusammengestellt, und zwar ist die Oxalsäureausscheidung bei der Glutarsäure am höchsten mit 33 mg am Tage. Es fällt allerdings dabei ins Gewicht, mindestens für die letztgenannte und für die Bernsteinsäure, daß an den Tagen, wo dieselben verabfolgt wurden, eine ziemlich starke Diurese eintrat, mithin die Möglichkeit vorliegt, daß es sich hierbei nur um eine stärkere Ausschwemmung der Oxalsäure, nicht um Bildung derselben aus den eingeführten Substanzen handelt.

Tabelle IV.

Datum	Urinmenge	Spez. Gew.	Ges.-N	Oxalsäure	Bemerkungen
1. Febr.	200	1,024	3,696	0,0015	14 Tage Hunger
2. „	300	1,015	5,172	0,0031	vor dem Versuch
3. „	300	1,021	4,356	0,0061	1 l Milch
4. „	400	1,016	7,564	0,0267	10 g Malonsäure
5. „	150	1,015	2,130	0,0027	
6./7. „	500	1,015	3,371	0,0054	
8. „	250	1,024	3,565	0,0065	
9. „	1100	1,010	6,050	0,0305	10 g Bernstein-
10. „	400	1,011	3,552	0,0129	säure
11. „	400	1,012	3,708	0,0108	
12. „	700	1,035	7,220	0,0066	
13. „	1100	1,009	4,185	0,0330	10 g Glutarsäure
14. „	250	1,025	3,387	0,0129	

Es fragte sich nun, ob auch die entsprechenden Eiweißabkömmlinge (die Aminodicarbonsäuren) denselben Einfluß auf die Oxalsäureausscheidung ausübten. Das Ergebnis war auch hier ein positives, und zwar stärker bei der Asparaginsäure

[1]) Heymanns, Du Bois' Archiv 1889, 168.

als bei der Glutaminsäure: es wurden 0,0311 resp. 0,0265 g Oxalsäure an den betreffenden Versuchstagen ausgeschieden.

Tabelle V.

Datum	Urinmenge	Spez. Gew.	Ges.-N	Oxalsäure	Bemerkungen
1. März	800	1,021	7,462	0,0119	
2. „	775	1,011	5,006	0,0149	
3. „	550	1,009	—	0,0311	10 g Asparaginsäure
4. „	750	1,012	6,52	0,0081	
5. „	300	1,014	3,39	0,0121	
6./7. „	1100	1,015	7,194	0,0070	
8. „	600	1,011	6,188	0,0265	10 g Glutaminsäure
9. „	460	1,012	6,351	0,0106	
10. „	480	1,015	5,430	0,0108	

Da ich relativ große Mengen dieser Substanzen verabfolgt hatte, so sind die Verhältnisse aus dem Experiment nicht ohne weiteres auf den physiologischen Stoffwechsel zu übertragen. Diese Versuche können eben nur die Möglichkeit dartun, daß diese Körper Oxalsäure bilden können, ohne daß dies darum normalerweise regelmäßig zu geschehen braucht. Da die Amino- sowie auch wohl die entsprechenden Fettsäuren diese Eigenschaft haben, so scheint auch hier eine Desamidierung der ersteren einzutreten und durch weitere Oxydation der entsprechenden Fettsäure Oxalsäure gebildet zu werden. Im Widerspruch hierzu steht indessen, daß die den Dicarbonsäuren entsprechenden Oxysäuren (Äpfelsäure, Tartronsäure) im Tierkörper keine Oxalsäure bilden (Pohl), was gegen eine solche sukzessive Oxydation anzuführen wäre.

Versuche an Diabetikern.

Da bei der Oxydation sämtlicher Kohlenhydrate mit Salpetersäure Oxalsäure entsteht, so liegt der Gedanke nahe, daß dieser Körper auch bei der Oxydation des Zuckers im tierischen Organismus auftritt, wenn nicht schon im normalen Stoffwechsel, so doch wenn derselbe gestört oder die Oxydation verlangsamt ist. Ältere Untersucher wie Czapeck[1]) und Fürbringer[2]) fanden bei Diabetikern eine gesteigerte Oxalsäureausscheidung; hierbei werden außerordentlich große Mengen angegeben, so gibt Frerichs[3]) an, 0,8 g oxalsauren Kalk er-

[1]) Czapeck, Prag. Zeitschr. f. Heilk. 2, 348, 1881.
[2]) Fürbringer, Arch. f. klin. Med. 16, 499.
[3]) Frerichs, Diabetes, S. 41; zit. nach Naunyn.

halten zu haben, und Naunyn[1]) zitiert einen Fall von Kausch, wo sogar 1,2 g am Tage ausgeschieden sein soll. Obwohl das mikroskopische Oxalatsediment keinen exakten Maßstab für die wirkliche Menge der ausgeschiedenen Oxalsäure darstellt, so scheint doch nach den Erfahrungen von Naunyn gerade im leichten Diabetes bei abklingender Zuckerausscheidung eine Vermehrung der Oxalsäure aufzutreten. Dies Verhalten würde ja auch mit der theoretischen Vorstellung von einer unvollkommenen Oxydation derselben übereinstimmen. Die neueren Untersucher haben im allgemeinen eine Oxalurie bei Diabetes nicht konstatieren können. So konnte weder Lüthje[2]) in seinem Stoffwechselversuch bei einem Diabetiker mehr Oxalsäure als normal im Urin nachweisen, noch konnten Luzzatto[3]) sowie Mohr und Salomon in den von ihnen untersuchten leichten und schweren Fällen größere Oxalsäuremengen auffinden. Auch ein von Lüthje an mit Kohlenhydraten überfütterten Gänsen angestellter Versuch hatte ein negatives Ergebnis. Dagegen war wiederum bei den von Moraczewski[4]) untersuchten Diabetesfällen teilweise eine Vermehrung der Oxalsäure im Urin nachzuweisen. Ich versuchte daher nochmals bei 2 schweren Diabetikern, von denen der eine Fall wohl der schwersten Form zuzurechnen ist — beide kamen im Coma innerhalb 2 bis 3 Monaten nach dem Versuch ad exitum —, je 1 Woche lang bei verschiedener Diät die Oxalsäureausscheidung und ihr Verhältnis zu der Zucker- und Gesamtacetonkörperausscheidung (Aceton nach Huppert, Oxybuttersäure nach Magnus-Levy) zu verfolgen. (Tabelle VI und VII.)

Die Werte an Oxalsäure sind verhältnismäßig geringe. Beachtenswert erscheint mir, daß auch bei Gemüsediät die Oxalsäure eine abnorme Höhe nicht erreicht. Nur auf ein erwähnenswertes Faktum möchte ich hinweisen, das ist die im Verhältnis zu den übrigen Oxalsäuremengen entschieden leicht erhöhte Ausscheidung dieses Körpers, während der Tage mit Haferdiät, wie dies der Fall auf Tabelle VII zeigt.

---

[1]) Naunyn, Diabetes, 1909, S. 209 und 210.

[2]) Lüthje, Zeitschr. f. klin. Med. 39, 397.

[3]) Luzzatto, Salkowski-Festschrift, S. 239; zit. nach Malys Berichten 24, 914.

[4]) v. Moraczewski, Zeitschr. f. klin. Med. 51, 471.

Tabelle VI.

Datum	Diät	Urinmenge	Ges.-N	Ges.-Zucker	Ges.-Acetonkörper	Oxalsäure	Bemerkungen
26./27. Nov.	Strenge Diät, 100 g Weißbrot	2910/1,039	12,14	194,7	13,06	0,0053	Abends täglich 0,5 g Aspirin, Gewicht 64 kg
27./28. „	Strenge Diät, 100 g Weißbrot	3000/1,035	15,38	181,2	9,00	0,0057	
28./29. „	250 g Hafer, 200 g Butter	1970/1,033	7,32	110,9	7,32	0,0075	
29./30. „	250 g Hafer, 200 g Butter	1690/1,030	5,99	88,1	4,50	0,0214	
30. Nov. bis 1. Dez.	250 g Hafer, 200 g Butter	1570/1,022	8,02	74,0	3,75	0,0076	
1./2. Dez.	Gemüse + 300 g Butter + 5 Eier + 5 Eigelb	1250/1,033	7,78	48,0	3,99	0,0130	Gewicht 64,1 kg
2./3. „	Gemüse + 300 g Butter + 5 Eier + 5 Eigelb	950/1,029	7,94	12,4	1,59	0,0094	

Tabelle VII.

Datum	Diät	Ordination	Urinmenge	Ges.-N	Ges.-D	Ges.-Acetonkörper	Oxalsäure	Bemerkungen
13./14.	Strenge Diät + 100 g Weißbrot	60 g Natrium bicarb.	2380	13,07	76,16	21,60	0,0066	
14./15.		60 g Natrium bicarb.	3560	12,98	120,04	16,78	0,0156	Somnolenz
15./16.	240 g Hafer, 6 Eier, 0,5 l Sahne, 100 Kognak, 40 Butter	40 g Natrium bicarb.	2620	5,14	83,84	47,08	0,0203	Comatöser Zustand
16./17.		40 g Natrium bicarb.	1740	6,33	46,98	30,53	0,0278	1 Ei weniger genommen
17./18.		30 g Natrium bicarb.	1985	8,92	79,40	30,27	0,0201	
18./19.	Gemüse, 0,5 l Sahne, 100 Kognak, 40 Butter, 2 Kaffee	20 g Natrium bicarb.	980	3,84	31,07	30,80	0,0144	
19./20.		20 g Natrium bicarb.	950	3,87	9,02	21,53	0,0045	

Ein experimentelles Analogon findet sich bei Hildebrandt[1]), der bei Kaninchen nach Haferfütterung eine stärkere Oxalsäureausscheidung beobachten konnte. Auf Grund meiner eigenen sowie der Hildebrandtschen Beobachtung bin ich geneigt, die hier im Falle 2 aufgetretene Erhöhung der Oxalsäurewerte (bis zu 0,028 g pro die) auf die Haferdarreichung zu beziehen, zumal während der Haferkur eine herabgehende Gesamtzuckerausscheidung zu konstatieren ist, somit eine erhöhte Oxydation

[1]) Hildebrandt, Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 141.

der Kohlenhydrate eingetreten zu sein scheint. Bei beiden Kranken konnte keinerlei Verhältnis zwischen der Oxalsäure und der Zucker- sowie Acetonkörperausscheidung festgestellt werden. Wie diese Beobachtungen und die verschiedenen in der Literatur niedergelegten Resultate zeigen, werden sich die Diabetiker bezüglich der Oxalurie (wie ja überhaupt in den Einzelheiten des Stoffwechsels sowie in ihrer Reaktion auf diätetische Maßnahmen) verschieden verhalten, so daß man bald in einem Falle unter gewissen Bedingungen eine gesteigerte Oxalsäureausscheidung konstatieren kann, die in einem anderen Falle fehlt. Bei der großen Zahl der für die Beurteilung der Herkunft der Oxalsäure in Betracht kommenden Substanzen wird es längerer Untersuchungsreihen bedürfen, um über die Bedingungen, unter denen eine solche auftreten kann, völlige Klarheit zu erhalten. Jedenfalls scheinen hierbei die Kohlenhydrate eine Rolle zu spielen, wie dies die erhöhte Oxalsäureausscheidung während der Hafertage im Fall 2 annehmen läßt. Daß dieselbe keine exogene sein dürfte, ergab eine Untersuchung des Knorrschen Hafermehles[1]) das der Patientin verabreicht wurde. Dasselbe enthielt 0,015 g Oxalsäure pro Kilogramm; das würde für die Tagesportion 0,0036 g ausmachen.

Zusammenfassung.

1. Nach den angestellten Untersuchungen kann die Oxalsäure verschiedenster Herkunft sein, speziell können Harnsäure, die Aminodicarbonsäuren, sowie wohl auch Kohlenhydrate Oxalsäure liefern. 2. Im intermediären Stoffwechsel findet, wie Digestionsversuche zeigen, eine Oxalsäurebildung vorwiegend in Milz, wahrscheinlich auch in Leber und Muskeln (mindestens bei Hunden) statt. 3. Bei Anomalien des Nucleinstoffwechsels (Gicht, Leukämie) läßt sich meist nur selten, wie dies aus der Literatur und den angefügten Beobachtungen hervorgeht, eine vermehrte Oxalsäurebildung nachweisen. Auch beim Diabetes scheint eine vermehrte Oxalsäureausscheidung unter Umständen vorzukommen; wenn eine solche beim Diabetes auftritt, so dürfte sie auf eine mangelhafte Oxydation der Kohlenhydrate zu beziehen sein.

---

[1]) Zu diesem Zwecke wurden 40 g Hafermehl in Portionen à 5 g mit insgesamt 800 ccm durch Salzsäure angesäuerten Wassers verrieben und im Filtrat die Oxalsäure nach Autenrieth und Barth bestimmt.

Studien in der Chlorophyllgruppe. VIII.

Von

L. Marchlewski.

Über die Bildung des Phyllotaonins aus Chlorophyllan.

Von

H. Malarski und L. Marchlewski.

Vorläufige Mitteilung.

(Eingegangen am 11. Juli 1910.)

Wie bekannt, gibt Alkachlorophyll unter dem Einfluß von Salzsäure in alkoholischer Lösung bei niedriger Temperatur einen Körper, der den Namen „Phyllotaoninäther" erhalten hat und der bei der Verseifung Phyllotaonin liefert. Denselben Körper glaubt E. Schunck auch aus dem Phyllocyanin durch Alkaliwirkung erhalten zu haben. Der eine von uns hat gezeigt, daß Phyllotaonin bzw. Allophyllotaonin mit Leichtigkeit aus den Zinkprophyllotaoninen entsteht, und es machte den Eindruck, als wenn die Anwesenheit eines komplex gebundenen Metalles die Bedingung der Phyllotaoninbildung ist. Weitere Untersuchungen, über die wir jetzt einen kurzen Bericht geben möchten, haben jedoch ergeben, daß die Chlorophyllansäure, die nach den Untersuchungen von Willstätter und Mieg ein Gemisch verschiedener Substanzen ist, die sie Phytochlorine nannten, zweifelsohne auch einen Körper enthält, der sich genau wie Allophyllotaonin verhält; dieser Umstand

spricht auch für die Möglichkeit der Phyllotaoninbildung aus Phyllocyanin.

Die Suche nach dem Phyllotaonin bzw. Allophyllotaonin stützte sich auf spektroskopische Methoden, nachdem wiederholt nachgewiesen wurde, daß die Absorptionsverhältnisse dieser Körper äußerst charakteristisch sind.

Die Verseifung des Chlorophyllans geschah in folgender Art: 15 g Chlorophyllan aus Brennesseln wurden mit 200 ccm $10^0/_0$ KOH in methylalkoholischer Lösung übergossen und während 24 Stunden in der Kälte unter zeitweisem Schütteln stehen gelassen. Sodann wurde in 2 l Wasser gegossen und durch Ätherextraktion das Phytol entfernt. Nun wurde die dunkel olivgrüne Lösung mit Essigsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Der in Äther unlösliche Anteil wurde vorläufig unberücksichtigt gelassen und die ätherische Lösung der Fraktionierung mit Salzsäure verschiedener Konzentration unterworfen, wobei von $1^0/_0$ HCl anfangend die Konzentration um $1^0/_0$ stetig zunahm. In dieser Art wurden 20 Lösungen hergestellt, die die verschieden stark basischen Farbstoffe in 20 Fraktionen zerteilten. Selbstverständlich enthielten viele derselben Gemische. Die sauren Lösungen wurden dann entweder nach einfachem Verdünnen mit Wasser oder nach Zusatz von Natriumacetat mit Äther extrahiert, die ätherischen Extrakte z. T. direkt spektroskopisch untersucht, z. T. eingedampft, der Rückstand bei 110° getrocknet und dann erst nach dem Lösen in Chloroform untersucht.

Chlorophyllansäure löslich in $1^0/_0$ HCl.

Über dieses Produkt haben wir bereits in der vorhergehenden Abhandlung Mitteilung gemacht. Die ursprüngliche Lösung in $1^0/_0$ Salzsäure gibt den Farbstoff nach dem Verdünnen mit dem 2fachen Volum Wasser ziemlich leicht an Äther ab, wobei eine grüne Lösung entsteht. Wird dieselbe der freiwilligen Verdampfung überlassen, so wird ein Produkt erhalten, das sich in Äther ziemlich leicht löst. Der Lösung kann der Farbstoff durch $1^0/_0$ Salzsäure wieder entzogen werden. Die ätherische Lösung des Rückstandes verursacht im sichtbaren Teil des Spektrums fünf Absorptionsbänder.

	Konzentration A	Konz. B (2 Vol. A + 1 Äther)	Konz. C (2 Vol. B + 1 Äther)	Konz. D (2 Vol. C + 1 Äther)
Band I	λ 686,0—596,0	λ 684,0—641,5	λ 682,5—647,0	λ 680,5—647,0
„ II		λ 621,3—599,5	λ 621,0—601,0	λ 618,5—601,0
„ III	λ 567,0—551,0	λ 566,0—552,5	λ 563,0—554,0	λ 562,5—554,5
„ IV	Endabsorption	λ 536,5—523,0	λ 535,0—524,5	λ 534,5—525,5
„ V	von 538,5 an	λ 516,5—478,0	λ 514,5—483,0	λ 513,0—484,5

	Konz. E (2 Vol. D + 1 Äther)	Konz. F	Konz. G	Konz. H
Band I	λ 679,5—650,5	λ 677,5—653,5	λ 675,0—655,5	λ 673,0—659,0
„ II	λ 618,0—603,5	λ 616,5—604,0	kaum sichtbar	kaum sichtbar
„ III	kaum sichtbar	kaum sichtbar	„ „	„ „
„ IV	λ 534,0—526,0	λ 533,0—526,5	„ „	„ „
„ V	λ 511,5—487,5	λ 510,0—487,5	λ 507,0—490,0	λ 507,0—490,5

Wird nun der oben erwähnte Rückstand bei einer Temperatur von 110° getrocknet, so erleidet er ziemlich bedeutende Umänderungen, die sich z. T. dadurch kennzeichnen, daß das Produkt in Äther viel schwerer löslich wird, daß der ätherischen Lösung 1 % Salzsäure keine Spur eines Farbstoffes entzieht, und daß die ätherische Lösung im Vergleich mit der des nicht getrockneten Produktes ein abweichendes Spektrum zeigt, wie die unten angeführte Zusammenstellung lehrt:

	Konz. A	Konz. B (2 Vol. A + 1 Äther)	Konz. C (2 Vol. B + 1 Äther)	Konz. D (2 Vol. C + 1 Äther)	Konz. E (2 Vol. D + 1 Äther)
Schatten	von λ 695,0 an	kaum sichtbar	unsichtbar		
Band I	λ 681,0—645,5	λ 678,5—648,0	λ 676,5—650,0	λ 674,0—653,5	λ 672,5—656,5
„ II	λ 615,0—601,0	λ 614,0—601,0	λ 613,0—603,3	kaum sichtbar	kaum sichtbar
„ III	λ 588,0—577,5	λ 586,0—578,0	kaum sichtbar		
„ VI	λ 562,0—552,5	λ 561,0—553,5	λ 561,0—554,0		
„ V	λ 532,5—523,0	λ 532,0—523,5	λ 531,0—524,5	λ 630,5—524,5	
„ VI	λ 511,5—483,0	λ 511.0—483,5	λ 508,8—487,5	λ 507,0—497,0	λ 506,0—497,0
„ VII	Endabsorption	Endabsorption	undeutlich sichtbar vor der He_γ-Linie	λ 453,3—447,0	λ 452,5—447,0

Die Farbe der Lösung ist grünlich-grau.

Die an den schwächer basischen Produkten ausgeführten Messungen können wir hier übergehen. Das Studium der Spektren der weniger basischen Produkte, anfangend mit dem in 10 % HCl löslichen, machte es bereits wahrscheinlich, daß unter den noch schwächer basischen Produkten ein Körper auftreten wird, der optisch dem Allophyllotaonin analog sein dürfte. Diese Schlußfolgerung fanden wir bei der Untersuchung

des durch 18 °/₀ Salzsäure entzogenen Anteiles der Chlorophyllansäure bestätigt. Das auf übliche Art isolierte Produkt wurde bei 110° getrocknet und in Chloroformlösung untersucht.

Der in 18 °/₀ HCl lösliche Anteil der Chlorophyllansäure.

	Konzentration A	Konz. B (2Vol.A+1Chlor.)	Konz. C (2Vol.B+1Chlor.)	Konz. D (2Vol.C+1Chlor.)
Band I	Anfangsabsorption bis λ 623	Absorption bis λ 628,5	Absorption bis λ 633	λ 724,5—638,5
„ II				
„ III	λ 603,5—587,0	λ 603,0—588,0	Maximum λ 600	undeutlich
„ IV	Endabsorption von λ 571 an	λ 567,0—534,0	λ 563,0—535,5	λ 561,0—538,0
„ V		λ 522,5—499,5	λ 520,5—501,0	λ 518,0—502,0
„ VI		λ 489,5—471,0	λ 489,0—471,0	λ 489,0—473,5

	Konz. E (2Vol.D+1Chlor.)	Konz. F (2Vol.E+1Chlor.)	Konz. G (2Vol.F+1Chlor.)	Konz. H (2Vol.G+1Chlor.)
Band I	λ 724,0—682,0	λ 721,0—683,0	λ 717—λ 686,0	λ 715,8—689,0
„ II	alsSchatten vonI; bis λ 645	λ 665,5—640,0	λ 659—λ 642,0	beinahe unsichtbar
„ III	undeutlich	unsichtbar	unsichtbar	unsichtbar
„ IV	λ 558,5—538,5	λ 556,0—541,5	λ 555,0—542,3	λ 554,5—544,0
„ V	λ 517,3—504,3	λ 516,0—505,0	λ 514,5—506,0	unsichtbar
„ VI	λ 488,8—475,5	λ 489,5—476,5	unsichtbar	

Zu bemerken ist, daß Band II mit I immer durch einen Schatten verbunden ist. Die obigen Werte stimmen überein mit dem Spektrum des Allophyllotaonins, das der eine von uns mit Koźniewski[1]) beschrieben hat; damals wurde für eine Konzentration, bei der die besonders typischen Bänder deutlich zu gleicher Zeit auftreten, folgendes gefunden:

Band	I	λ 725—680
„	II	λ 650—631
„	III	λ 555—539
„	IV	λ 514—500
„	V	λ 486—471

als Werte, die mit denen der Konzentration F ziemlich gut übereinstimmen. Nur bei Band II sind größere Abweichungen vorhanden, die aber dadurch erklärt werden müssen, daß die Messung dieses Bandes infolge seiner schlechten Konturen große Schwierigkeiten macht.

[1]) Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie 1907, 623.

Weiterhin wurde konstatiert, daß das untersuchte Produkt unter dem Einfluß von Alkalien eine Umwandlung erfährt, indem jetzt ein Körper von weit stärkeren basischen Eigenschaften entsteht. Derselbe wird der ätherischen Lösung zum großen Teil bereits von 4% HCl entzogen und zeigt ein Phyllotaoninspektrum, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

<table>
<tr><th></th><th>Konz. A</th><th>Konz. B</th><th>Konz. C</th><th>Konz. D</th></tr>
<tr><td>Band I</td><td>λ 691,0—642,0</td><td>λ 682,5—649,5</td><td>λ 680—654,0</td><td>λ 676,0—662,0</td></tr>
<tr><td>„ II</td><td>λ 622,0—603,0</td><td>λ 617,5—606,5</td><td>schwer zu messen</td><td rowspan="4">kaum sichtbar</td></tr>
<tr><td>„ III</td><td>λ 568,0—556,0</td><td>kaum sichtbar</td><td>unsichtbar</td></tr>
<tr><td>„ IV</td><td>λ 534,5—522,5</td><td>λ 534,0—526,0</td><td>λ 532,5—526,5</td></tr>
<tr><td>„ V</td><td>λ 512,3—483,5</td><td>λ 508,5—487,0</td><td>λ 507,5—489,5</td></tr>
</table>

Wird das auf diese Art gewonnene Produkt nach dem Verjagen des Äthers bei 110° getrocknet, so wird es wieder in ein schwach basisches Produkt umgewandelt, das das Allophyllotaoninspektrum zeigt.

Es unterliegt danach keinem Zweifel, daß Chlorophyllan beim Verseifen neben anderen Produkten auch einen Körper gibt, der sich optisch wie Allophyllotaonin bzw. Phyllotaonin verhält. Ob dieser Körper auch in anderen Beziehungen sich identisch mit dem aus Alkachlorophyll und aus Zinkprophyllotaoninen erhaltenen erweisen wird, hoffen wir bald zu entscheiden und behalten uns dieses Thema vor.

Einige neue Phänomene des kolloiden Zustandes.

Von

P. Rohland.

(Aus dem Institut für Elektrochemie und technische Chemie der Technischen Hochschule zu Stuttgart.)

(Eingegangen am 12. Juli 1910.)

Bei Reaktionen zwischen Substanzen im Kolloid- und Krystalloidzustand treten keine Verbindungen in festen, stöchiometrischen Verhältnissen auf; es bilden sich Adsorptionsverbindungen, die auf die gewöhnlichen Reaktionen versagen; erst wenn das kolloide Gebilde zerstört ist, sind letztere wieder zu konstatieren.

So setzt sich adsorbiertes Permanganat nicht mit Wasserstoffsuperoxyd um, auch nicht mit schwefliger Säure oder Ammoniumsulfid, adsorbiertes Eisenchlorid gibt nicht die Berliner-Blau-Reaktion.[1])

Von Zement adsorbierte CO_3''- und HCO_3'-Ionen sind mit 2fach molarer Salzsäure nicht nachzuweisen,[2]) erst auf Zusatz von konzentrierter Salzsäure findet lebhafte Entwicklung von Kohlendioxyd nebst reichlicher Bildung von Eisenchlorid statt; erst durch diese wird das Adsorptionsgebilde zerstört, wodurch das Eintreten der gewöhnlichen Reaktion garantiert wird.

Auch die Löslichkeit wird durch die Adsorption beeinflußt; aus geformtem Flaschenglas ist Natriumsulfat mit Wasser nicht herauszubringen; das adsorbierte Natrium-

---

[1]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 59, 203, 1909.

[2]) P. Rohland, Über die Reaktionsträgheit adsorbierter CO_3''-Ionen. Kolloid-Zeitschr. 33, 1909.

sulfat ist dem Wasser gegenüber unlöslich geworden; erst nach Deformierung des Glases geht es in Lösung.[1])

Beim Brennen von Ziegeln entstehen ebenfalls unlösliche Adsorptionsverbindungen zwischen den Silicaten, dem Natriumsulfat, Magnesiumsulfat und Calciumsulfat, die erst nach der Zerkleinerung der Ziegel wasserlöslich werden.[1])

Pflanzliche, tierische und Anilinfarbstoffe, die von Tonen und Talken adsorbiert worden sind,[2]) sind vollständig wasserunlöslich geworden und können auf keine Weise wieder in den wasserlöslichen Zustand übergeführt werden.

Die physiologische Wirkung wird durch die Adsorption vermindert; die Giftwirkung der Bariumsalze ist im kolloiden Zustand geringer als im krystalloiden.

Es ist wahrscheinlich, daß auch bei dem von Bunsen angegebenen Mittel gegen Arsenvergiftungen der kolloide Zustand des Eisenhydroxyds bei dieser Schutzwirkung von großem Einfluß ist; und es wäre vielleicht von physiologischem Interesse, zu prüfen, ob auch Aluminiumhydroxyd ein analoges Verhalten zeigt.

Für physiologische Reaktionen ist die Reaktionsträgheit und -unfähigkeit adsorbierter Stoffe sehr wahrscheinlich von großer Bedeutung.

Der Kolloidzustand weist noch zwei andere Phänomene auf; die Viscosität der Substanzen im Kolloidzustand wird durch bestimmte Ionenarten verstärkt oder vermindert.

Bei den Tonen führen die Verstärkung die Wasserstoffionen, die Verminderung die Hydroxylionen herbei; die Verstärkung ist in der gegenseitigen Anziehung der negativ geladenen Tonteilchen und der positiv geladenen Wasserstoffionen und der damit verknüpften Komplexbildung, die Verminderung in der Abstoßung der negativen Hydroxylionen und der Tonteilchen begründet.[3])

In rein physikalischer Beziehung haben die einzelnen Teilchen eines Stoffes im kolloiden Zustande die ausgeprägte

---

[1]) Vgl. P. Rohland, Zeitschr. f. angew. Chem. 20, 44, 1907.

[2]) P. Rohland, Über die Adsorption durch Tone und Talke. Diese Zeitschr. 17, 220, 1909; 23, 278, 1909; 25, 420, 1910.

[3]) P. Rohland, Die Tone. Wien 1909.

Tendenz, nicht nur unter sich fest aneinander zu haften, sondern auch ganz besonders an Fremdkörpern.

Im besonderen Maße kommt das bei dem Kalkmörtel, beim Beton und Eisenbeton zum Ausdruck; indem die durch das Wasser abgespaltenen Stoffe im Kolloidzustand, die Hydroxyde des Siliciums, Aluminiums, Eisens, die große Adhäsion zwischen ihnen und dem Sand, Kies und Eisen hervorrufen; sie beträgt beim Eisenbeton 40 bis 47 kg/qcm.[1])

Bei allen diesen Vorgängen bleibt das Gemeinsame, daß sie ihre Ursache in der zellartigen Struktur der Stoffe im Kolloidzustande haben.

---

[1]) P. Rohland, Beton-Zeitschr. 8, 49, 1909.

Zur Kenntnis der Leberpigmente der wirbellosen Seetiere.

Von

Raffaele Paladino.

(Aus dem chemisch-physiologischen Institut der Kgl. Universität und der chemischen Abteilung der zoologischen Station zu Neapel.)

(Eingegangen am 12. Juli 1910.)

Während die Leber der wirbellosen Tiere vom anatomischen Standpunkte aus bemerkenswerte Unterschiede aufweist, sehen wir, daß sie bei allen Tieren gefärbt ist; bei den Wirbeltieren, Weichtieren, Schaltieren ist ihre Farbe meist braungelb oder braungrün.

Soweit mir bekannt ist, sind die Leberpigmente hauptsächlich histologisch untersucht worden. Die Beobachter haben hervorgehoben, daß diese Pigmente an zwei Stellen vorkommen, einmal in der Leber selbst und dann, und zwar öfter, als protoplasmatische Granulationen, die mehr oder weniger die mikrochemischen Eisenreaktionen geben.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zur Kenntnis der Leberpigmente einiger wirbelloser Seetiere bringen. Dieses Studium bezieht sich auf die Isolierung der Leberpigmente, ihr spektroskopisches Verhalten und ihren Eisengehalt. Zum Vergleich diente der Hund. Das Studium der Leberpigmente der Schaltiere ergab fast die gleichen Resultate wie bei den Wirbeltieren. Die verschiedene Farbe des Lebergewebes bei den erwähnten Tieren ist den Pigmenten zuzuschreiben, die seine anatomischen Elemente durchtränken. Es gibt gewöhnlich zwei dieser Pigmente; sie unterscheiden sich voneinander durch ihre Löslichkeitsverhältnisse.

Um den in der Leber enthaltenen Farbstoff zu isolieren, hielt ich anfangs eine Pepsinverdauung für notwendig, da diese die Zellsubstanz zerstört und das Pigment übrig läßt. Es sei jedoch bemerkt, daß dieses schon von anderen angewandte Verfahren nicht ohne gewisse Übelstände ist, denn die Zerstörung der Zellelemente beeinflußt auch das zu untersuchende Pigment. Es ist daher vorzuziehen, die Pigmente durch einfaches Aufweichen auszuziehen.

Zu dem Zwecke zerschnitt ich die Lebermasse und zerquetschte sie zu Brei. Dieser Brei wurde längere Zeit im Vakuum über Schwefelsäure belassen, bis er eine trockene Masse bildete. Diese wurde dann im Mörser zu einem feinen Pulver verrieben. Mit diesem Pulver stellte ich mit Wasser, Chloroform oder Alkohol Auszüge her. — Wie schon bemerkt, gibt es hier, wie bei den Wirbeltieren (Typus Hund), zwei Pigmente: eines, das in Wasser, aber nicht in Chloroform oder Alkohol löslich ist, und eins, das in Chloroform, aber nicht in Wasser löslich ist. Beide zeigen im Spektroskop keine isolierten Streifen, sondern Allgemeinabsorption im Blau und Violett. Außerdem enthalten beide Eisen, doch in ungleicher Menge.

Das wasserlösliche Pigment erhielt ich aus dem getrockneten Leberpulver durch Ausziehen mit leicht alkalisch gemachtem Wasser; das in Chloroform und Alkohol lösliche Pigment gewinnt man durch Extraktion des vorher mit Wasser ausgezogenen Pulvers mit organischen Solvenzien.

Eigenschaften der Pigmente. Mineralsäuren sowie Essigsäure erzeugen in der durch verdünnte Sodalösung gewonnenen Farbstofflösung einen leichten Niederschlag, der sich in einem Reagensüberschuß nicht auflöst. In verschiedenen Mengen hinzugefügte Alkalien bewirken keine nennenswerte Veränderung, weder Fällung noch Farbenumschlag. Mit salpetriger Säure erhält man keine charakteristische Reaktion, sondern nur einen weißen Niederschlag. Die verschiedenen Oxydationsmittel haben keine charakteristische Wirkung. Erwärmung, Luftverdünnung und Licht haben keinen Einfluß.

In dem in Chloroform löslichen Pigment bewirkt Essigsäure keine Veränderung. Alkoholische Natronlauge erzeugt einen Niederschlag, der beim Schütteln und einem Reagensüberschuß wieder verschwindet. Mit dem Gmelinschen Reagens erhält man nichts Charakteristisches. Wenn man alkoholische Jodlösung auf die alkoholische Pigmentlösung einwirken läßt, so verändert sich die Farbe: sie geht von Gelb in Dunkelrot über; Schwefelwasserstoffeinleitung hellt das Dunkelrot wieder bis zu Gelb auf. In der Hitze wird die Färbung gesättigter. Licht hat keinen Einfluß. Im Spektrum sieht man im Rot einen sehr deutlichen Streifen; das Violett wird absorbiert. Der wässerige Auszug zeigt, wie früher bemerkt, keine Streifen.

Ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Pigmenten besteht hinsichtlich ihrer Zusammensetzung. Das wasserlösliche ist reich an Eisen, das chloroformlösliche arm daran oder ganz frei davon.

Bei den wirbellosen Tieren gestaltet sich die Untersuchung der Leberpigmente einfacher als bei den Wirbeltieren. Erstens ist in den

meisten Wirbellosen das Blut wenig oder gar nicht gefärbt, so daß die Farbe der Leber durch die des Blutes nicht beeinflußt wird, und man also das Blut aus der Leber nicht auszuwaschen braucht; dann kann man auch in den Wirbellosen die Leberpigmente durch Zermalmung der Leber in alkalischem Wasser leicht erhalten.

Unter den Kopffüßern habe ich den Octopus vulgaris und die Sepia officinalis untersucht; sie verhalten sich etwas verschieden voneinander. Im Tintenfisch stellt sich die Leber gelblich gefärbt dar. Man entfernt sie sorgfältig aus dem Körper, und zwar so, daß sie nicht mit den Pigmenten des Tintensackes in Berührung kommt. Sie wird dann klein geschnitten und zerstampft; der Brei wird im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Das wasserlösliche Pigment wird aus dem getrockneten Leberpulver isoliert. Es ist in Chloroform und Alkohol unlöslich. Es ist reich an Eisen. Das wasserlösliche Pigment gibt ein kontinuierliches Spektrum ohne Streifen. Hinsichtlich seiner Eigenschaften verhält es sich genau wie das wasserlösliche Pigment eines Wirbeltieres.

Das chloroform- oder alkohollösliche Pigment erhält man entweder aus dem Rückstande des wässerigen Auszuges oder direkt aus dem getrockneten Leberpulver. Es hat ein kontinuierliches Spektrum ohne Streifen; von Eisen sind nur Spuren vorhanden. Die beiden Pigmente des Tintenfisches sind wohl mit den aus der Leber eines Hundes oder anderer Wirbeltiere isolierten Pigmenten identisch.

Bei Octopus vulgaris ist die Leber bräunlich gefärbt. Das wasserlösliche Pigment hat die gewöhnlichen Eigenschaften wie bei den Wirbeltieren und dem Tintenfisch. Es ist gleichfalls reich an Eisen. Was das chloroform- oder alkohollösliche Pigment betrifft, so hat es ein bemerkenswertes Spektrum, nämlich 4 Streifen: einen im Rot, der sehr hervorsticht, einen schwächeren im Orange, den dritten und vierten im Grün. Dieses chloroformlösliche Pigment zeigt, wie beim Tintenfisch, nur Spuren von Eisen.

Die Kopffüßer bieten uns also zwei Typen. Der eine ist der Tintenfisch, dessen Leberpigmente dieselben Eigenschaften aufweisen wie die der Wirbeltiere; der andere Typus ist der Octopus, in dem das wasserlösliche Pigment identisch ist mit dem der Wirbeltiere, was seinen Gehalt an Eisen betrifft, dessen chloroformlösliches Pigment aber vier charakteristische Absorptionsstreifen zeigt und das kein Eisen enthält.

Von den Gasteropoden (Opistobranchi) habe ich die Leber der Aplysia limacina untersucht. Dieselbe hat eine grünliche Farbe. Die Pigmente erhielt ich gleichfalls durch einfaches Zerquetschen der Leber in leicht alkalisch gemachtem Wasser. Besser ist es zwar, die Leber erst im Vakuum über Schwefelsäure zu trocknen und sie dann zu pulverisieren. Das wasserlösliche Pigment ist reich an Eisen und hat alle Eigenschaften und Reaktionen des wasserlöslichen Pigments der Wirbeltiere. Es gibt ein kontinuierliches Spektrum ohne isolierte Streifen. Das chloroformlösliche Pigment gibt ein Spektrum mit drei charakteristischen Streifen und enthält nur Spuren von Eisen.

Unter den Schaltieren habe ich die Leber von Maja verrucosa und Maja squinada untersucht. Die Ergebnisse waren genau dieselben wie bei den Wirbeltieren und Kopffüßern: das wasserlösliche Pigment enthält Eisen, das chloroformlösliche hat ein kontinuierliches Spektrum und enthält kein Eisen.

Zusammenfassung.

Aus den Wirbellosen, die ein besonderes Leberorgan besitzen (Weichtiere, Schaltiere) kann man, wie bei den Wirbeltieren, durch einfaches Zerquetschen der Leber zwei durchaus voneinander verschiedene Pigmente erhalten: das wasserlösliche und das chloroform- oder alkohollösliche. Ersteres ist meistens reich an Eisen und gibt ein kontinuierliches Spektrum, letzteres enthält entweder nur Spuren von Eisen oder ist völlig frei davon; es zeigt ferner ein Spektrum mit isolierten Streifen.

Bei den Kopffüßern muß unterschieden werden zwischen 1. Tintenfischen; diese haben dieselben Leberpigmente wie die Wirbeltiere; das wasserlösliche ist eisenhaltig und hat ein kontinuierliches Spektrum; das chloroformlösliche ergibt Spuren von Eisen, und sein Spektrum hat isolierte Absorptionsstreifen; 2. Octopus vulgaris, in dem das chloroformlösliche Pigment vier charakteristische Absorptionsstreifen aufweist.

Bei den Schaltieren hat man dieselben Leberpigmente wie bei den Kopffüßern; sie sind identisch mit denen der Wirbeltiere.

Literatur.

Dastre und Floresco, Recherches sur les Matières colorantes du Foie et de la Bile.

Dastre und Floresco, Pigment hépatique chez les Invertébrés. Arch. de Physiol., Série 5, 10, Année 20.

Über das Verhalten der Oberflächenspannung bei der Verbindung von Toxin mit Antitoxin.

Von

Amilcare Bertolini.

(Aus der chemischen Abteilung der Kgl. medizinischen Klinik zu Genua.)

(Eingegangen am 12. Juli 1910.)

Als Erklärung der von ihm veröffentlichten Typhusmeiostagminreaktion spricht Ascoli[1]) die Hypothese aus, daß „Stoffe von geringerem Haftdrucke, auf welche die Oberflächenspannungserniedrigung zurückzuführen sein dürfte, bei der Reaktion zwischen Antikörper und Lipoidantigene (selbstverständlich wäre es möglich, daß in anderen Fällen Eiweißantigene dieselbe Rolle übernehmen) entstehen".

Traube selbst hat diese Auslegung der Meiostagminreaktion angenommen, da er schreibt,[2]) daß „Toxin wie Tetanus- und Diphtherietoxin, sowie Gifte, wie Kobra, die Oberflächenspannung sehr erheblich erniedrigen, im Gegensatze zu den Antitoxinen, die zweifellos Stoffe von wesentlich größerem Haftdrucke sind. Die Verbindung von Toxin und Antitoxin muß dagegen wegen der Vergrößerung des Komplexgewichtes die Oberflächenspannung noch stärker herabdrücken als die Toxine, und in der Tat haben zuerst Ascoli und alsdann Izar festgestellt, daß bei Typhus, Tuberkulose und Lues die Verbindung von Antikörpern und Antigen mit einer Vergrößerung der Tropfenzahl verbunden ist".

Schon kurze Zeit nach Ascolis Veröffentlichung fing ich, auf Anraten von Herrn Prof. Dr. A. Barlocco, mit einer Reihe von Untersuchungen an, um zu erforschen, ob die Vereinigung des Antigens mit Antikörpern wirklich eine Oberflächen-

---

[1]) Ascoli, Münch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 2.

[2]) Traube, diese Zeitschr. 24, 343, 1910.

spannungserniedrigung verursache. Ich wählte anfänglich Diphtherie- und Tetanus-Toxin und Antitoxin, weil diese Stoffe die besten Bedingungen darboten, um ein Urteil über solch eine Veränderung abzugeben. In der Tat sind diese Stoffe diejenigen Antigene und Antikörper, die in dem biologischen Mechanismus der Immunreaktionen am einfachsten zum Vorschein kommen, die am leichtesten sich dosieren lassen, und deren Verbindungen in ihren physiopathologischen Effekten mathematisch beständigen Gesetzen folgen.

Als die Traubesche Veröffentlichung erschien, aus der wir die vorher angegebenen Worte entnommen haben, waren wir mit unseren Untersuchungen schon fortgeschritten.

Unsere Bestimmungen wurden mit Traubes Stalagmometer (58,8 Tropfen destilliertes Wasser 15°, deren Verteilungen $^{2}/_{10}$ Tropfen entsprachen) ausgeführt. Es wurde die größte Aufmerksamkeit auf die Zeit gelegt ($^{1}/_{2}$ bis 1 Stunde), die die aus dem Eis- und Brutschrank entnommenen Flüssigkeiten brauchten, um die Zimmertemperatur zu erreichen (ungefähr 20°), bei der unsere Tropfenzählungen gemacht worden sind. Nach jeder Bestimmung wurde der Stalagmometer an der Saugpumpe mit destilliertem Wasser und dann mit Alkohol und Äther gründlich gewaschen.

Diphtherie-Toxin und Antitoxin.

Ich benutzte das mir vom Maraglianoschen Institute für Infektionskrankheiten, Genua, liebenswürdigerweise überlassene und von mir selbst in seinen biologischen Wirkungen dosierte Toxin und Antitoxin. 0,04 g Toxin töteten in 24 Stunden 250 g Meerschweinchen; 1 ccm Antitoxin enthielt 1000 antitoxische Einheiten.

I. Die Tabelle I diente mir nur zur Orientierung. Sie hat aber meiner Ansicht nach auch einen Wert, da sie die Oberflächenspannung nach dem Zusammenbringen einer bestimmten Menge Antigens (1:100 verdünntes Toxin) mit einer ungeheuer größeren Menge Antikörper (unverdünntes Toxin) mißt.

Die sich von oben nach unten allmählich vergrößernde Tropfenzahl in den beiden Nummerkolonnen hängt nur vom Zusammenbringen der immer größeren — mit niedrigerer Oberflächenspannung — Menge Antitoxin und der immer kleineren — mit größerer Oberflächenspannung — Menge Toxin ab, wie man aus den beiden Kontrollstalagmometrien entnehmen kann. Die Tropfenzahl der Flüssigkeiten vor und nach 2stündigem Aufenthalte im Brutschrank bei 37° ändert sich dagegen um einige Tropfenteile.

Tabelle I.

Toxin ccm	Antitoxin ccm	Tropfenzahl sofort	Tropfenzahl nach 2stündigem Verweilen bei 37°
9	1	62,0	62,2
8	2	63,2	63,8
7	3	64,0	64,2
6	4	65,2	65,6
5	5	66,6	66,4

Tropfenzahl des 1:100 verdünnten Toxins = 58,6
„ „ unverdünnten Antitoxins = 70,0

II. Im Gegensatze zu der vorigen prüfte ich in einer anderen Untersuchungsreihe den Einfluß auf die Oberflächenspannung einer bestimmten Menge Antikörper (2,5:1000 verdünntes Antitoxin) mit einer viel größeren Menge Antigen (unverdünntes Toxin) gemischt.

Tropfenzahl des unverdünnten Toxins (9 ccm) + 2,5 $^0/_{00}$ verdünnten Antitoxins (1 ccm) sofort: 67,6.

Tropfenzahl des unverdünnten Toxins (9 ccm) + 2,5 $^0/_{00}$ verdünnten Antitoxins (1 ccm) nach 2stündigem Aufenthalt bei 37°: 67,9.

Tropfenzahl des unverdünnten Toxins allein: 68,4.

Auch hier handelt es sich nur um einen Unterschied von $^3/_{10}$ Tropfen.

III. Weiter habe ich Toxin- und Antitoxinlösungen gemacht, so daß eine bestimmte Menge der einen den biologischen Effekt eines gleichen Volumens der anderen neutralisierte; ich verdünnte also das Diphtherie-Toxin auf 1:10 (1 ccm enthält 2,5 tödliche Dosen) und das Diphtherie-Antitoxin auf 2,5:1000 (1 ccm enthält 2,5 antitoxische Einheiten).

Außer den Stalagmometrien eines Gemisches gleicher Volumina solcher Lösungen, in denen die vollständige gegenseitige Sättigung des Antigens und die der Antikörper erreicht war, wollte ich auch die Oberflächenspannung der aus dem Zusammenbringen der einerseits aufsteigenden und andrerseits absteigenden Menge der Toxin- und Antitoxinlösung sich ergebenden Flüssigkeiten bestimmen, um in einer dieser Mischungen jenen Punkt sicher zu treffen, in dem die vollständige Neutralisation erreicht gewesen wäre, wenn wegen eines beliebigen Zufalles diese Neutralisation nicht stattgefunden hätte, als die Volumina der beiden Flüssigkeiten gleich waren.

Ich lasse dann weitere Kontrollproben folgen, in denen das antitoxische Serum durch Normalserum in denselben Verdünnungs- und Volumverhältnissen ersetzt wurde.

Die erhaltenen Zahlen sind in den Tabellen II und III angegeben.

Wenn man die Flüssigkeiten vor und nach 2stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° vergleicht, sieht man hier auch nur Zehnteltropfenveränderungen; während aber die Mischung von Toxin mit Antitoxin eine Bestrebung zur Oberflächenspannungserniedrigung zeigt, wenn man Normalserum anwendet, erhält man im Gegenteil eine Bestrebung zur Oberflächenspannungsvergrößerung.

Tabelle II.

Toxin ccm	Antitoxin ccm	Tropfenzahl sofort	Tropfenzahl nach 2stündigem Verweilen bei 37°
9	1	63,4	63,4
7	3	63,2	63,4
6	4	61,4	62,0
5	5	61,2	61,7
4	6	60,4	61,0
3	7	60,2	60,8
1	9	59,2	59,6

Tropfenzahl des 1:10 verdünnten Toxins . . . . = 63,6
„ „ 2,5:1000 verdünnten Antitoxins = 59,0

Tabelle III.

Toxin ccm	Normalserum ccm	Tropfenzahl sofort	Tropfenzahl nach 2stündigem Verweilen bei 37°
9	1	63,0	62,6
6	4	62,8	62,4
5	5	61,6	61,6
4	6	61,2	61,0
1	9	59,5	59,2

Tropfenzahl des 2,5:1000 verdünnten Normalserums = 58,4.

IV. In der Tabelle IV sind die Toxinverdünnungen jedesmal 1:10. Antitoxinlösungen sind in ihren Verdünnungen abweichend, und zwar, wie die folgende Tabelle von oben nach unten gelesen zeigt, trifft man zunächst Lösungen an, die eine größere Menge Antitoxin enthalten, als die zur Neutralisation der ihnen beigemischten Menge Toxin nötig wäre, 5:1000, 4:1000 und 3:1000. Dann kommt man zu einer die betreffende Menge Toxin vollständig neutralisierenden Lösung 2,5:1000, wie in der Tabelle II. Endlich findet man mangelndes Antitoxin enthaltende Lösungen, 2:1000 und 1,5:1000.

Ähnliche, mit Normalserum ausgeführte Kontrollen wurden in der Tabelle V gemacht.

Tabelle IV.

Toxin 5 ccm	Antitoxin 5 ccm	Tropfenzahl sofort	Tropfenzahl nach 2stündigem Verweilen bei 37°
1:10 verdünnt	5:1000 verdünnt	62,0	61,8
1:10 „	4:1000 „	61,8	62,0
1:10 „	3:1000 „	61,6	61,9
1:10 „	2,5:1000 „	61,4	61,8
1:10 „	2:1000 „	61,4	61,6
1:10 „	1,5:1000 „	61,2	61,4

Tabelle V.

Toxin 5 ccm	Normalserum 5 ccm	Tropfenzahl sofort	Tropfenzahl nach 2stündigem Verweilen bei 37°
1:10 verdünnt	5:1000 verdünnt	61,6	61,7
1:10 „	3:1000 „	61,4	61,8
1:10 „	2,5:1000 „	61,3	61,6
1:10 „	2:1000 „	61,2	61,7
1:10 „	1:1000 „	61,3	62,0

In diesen beiden Tabellen ist eine Bestrebung der Zehnteltropfenzunahme, besonders für das Normalserum, bemerkenswert.

Tetanus-Toxin und Antitoxin.

Das schon dosierte Toxin kommt vom Serotherapeutischen Institute, Mailand (tödliche Dosis für 250 g Meerschweinchen innerhalb 24 Stunden = 0,01 g). Als Antitoxin brauchten wir das Tizzonische antitetanische Serum, das für uns den Vorteil hatte, daß es eine kleinere immunisierende Kraft als dasjenige uns vom Pasteurschen Institute, Paris, freundlichst überlassene enthielt (1 ccm = 800000 antitoxische Einheiten gegen die für Meerschweinchen tödliche Dosis).

Wir machten 3 Bestimmungsreihen. In den beiden ersten neutralisierten 10 ccm Toxinlösung 1 ccm Antitoxinlösung, und nur die Menge der antitoxischen und tödlichen Dosen wechselte. In der 3. Reihe wurden die Verdünnungen so gemacht, daß 5 ccm Toxin 5 ccm Antitoxin neutralisierten. Dann nahm man vom Toxin absteigende und vom Antitoxin aufsteigende Mengen, ganz ähnlich wie vorher bei dem Diphtherietoxin.

Tabelle VI.

	Toxin	Antitoxin	Tropfenzahl sofort	Tropfenzahl nach 2stünd. Verweilen bei 37°
I.	10 ccm 3:10 verd. (300 tödl. Dos.)	1 ccm 1:532 verd. (300 antit. Einh.)	62,2	62,5
II.	10 ccm 2:10 verd. (200 tödl. Dos.)	1 ccm 1:800 verd. (200 antit. Einh.)	61,1	61,0
III.	6 ccm 2:10 verd. (120 tödl. Dos.)	4 ccm 1:8000 verd. (80 antit. Einh.)	59,8	60,0
	5 „ 2:10 „ (100 „ „)	5 „ 1:8000 „ (100 „ „)	59,3	59,5
	4 „ 2:10 „ (80 „ „)	6 „ 1:8000 „ (120 „ „)	58,8	59,1
	3 „ 2:10 „ (60 „ „)	7 „ 1:8000 „ (140 „ „)	58,7	58,6
	2 „ 2:10 „ (40 „ „)	8 „ 1:8000 „ (160 „ „)	58,6	58,3

Mit diesen Flüssigkeiten eingespritzte Tiere gaben uns ein Bild über die Genauigkeit der Dosierung der Toxin- und Antitoxinlösungen.

Auch hier merkt man beinahe beständig die gewöhnliche Zehnteltropfenzunahme.

Aus den vorhergehenden Untersuchungen ersehen wir, daß bei dem Zusammenbringen von Toxin und Antitoxin vor und nach 2stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° keine oder meistens nur Zehnteltropfenzunahme eintritt, die aber so un-

bedeutend ist, daß der Verdacht ganz natürlich erscheint, daß sie auf zufällige Gründe zu beziehen sei, wie z. B. auf den kleinen Unterschied der Zimmertemperatur vor und nach dem Aufenthalte im Brutschrank wie auch auf die auch bei der größten Aufmerksamkeit unvermeidlichen verschiedenen Anlässe, nach denen die Stalagmometrien gemacht worden sind (Erschütterungen, Ablesen des Stalagin usw.); endlich können auf die Veränderungen, die die Sera nach 2stündigem Aufenthalte bei 37° vielleicht annehmen, von der Neutralisation der in sich enthaltenden Immunstoffe abgesehen, in derselben Weise reagieren, wie man sie durch Inaktivierung durch Hitze, wie Traube zuerst bewies,[1]) ganz deutlich beobachten kann. Wer sich mit solchen Oberflächenspannungsbestimmungen der Sera etwas beschäftigt hat, wird bemerkt haben, wie leicht und oft man mit kleinen Unregelmäßigkeiten zu tun hat; manchmal handelt es sich um Zunahme, manchmal um Abnahme der Oberflächenspannung, die von jeder annehmbaren Ursache unabhängig ist, so daß nur die größeren Schwankungen der Tropfenzahl von Bedeutung sind, Zehnteltropfenunterschiede dagegen nicht in Frage kommen. Bei Ascolis Meiostagminreaktion erhält man sogar 8 Tropfen Unterschied.[2])

Die aber in der Tabelle V für Normalserum ganz ähnlich wie für Immunserum ersichtliche Zehnteltropfenzunahme nimmt jeden Wert der Erklärung ab, daß die für das antitoxische Serum beobachtete kleine Tropfenzunahme wenigstens als einen spezifischen Versuch, die Oberflächenspannung herabzudrücken, zu betrachten sei.

Ist es außerdem möglich, daß der von uns beobachtete kleine Oberflächenspannungsunterschied auf der Bildung jener Stoffe mit vergrößertem Komplexgewichte, die Traube als Produkte der Verbindung von Toxin mit Antitoxin betrachtet, zu beziehen sei? Ich würde es nicht bejahen, weil die ungeheure Menge solcher Stoffe, die zweifellos in unseren Fällen sich hätten bilden müssen, viel größere Tropfenunterschiede ergeben hätten.

Man könnte vielleicht bei dieser Untersuchungsreihe einwenden, daß die Verbindung des Antigens mit den Antikörpern beim Zusammenbringen der beiden Flüssigkeiten sofort die

[1]) Traube, diese Zeitschr. 10, 1908.

[2]) Ascoli und Izar, Münch. med. Wochenschr. 1910, 404.

Oberflächenspannungserniedrigung verursacht habe; wir hätten also diese Veränderung nicht beobachten können, weil, da wir sie erst nach 2stündigem Aufenthalte im Brutschrank bei 37° erforschten, sie schon vor der früheren Stalagmometrie entstanden war. Aber diesem Einwand widerspricht die von allen Forschern angenommene Tatsache, daß die Toxin- und Antitoxinverbindung sich nicht sofort, sondern erst innerhalb einer gewissen Zeit vollzieht. Außerdem haben wir einen vollgültigen Beweis gegen diesen Einwand, und zwar, wie man aus den Tabellen II und IV ersehen kann: die Tropfenzahl für 1 : 10 verdünntes Toxin ist 63,6, während jene der verschiedenen Toxin- und Antitoxinmischungen immer kleiner ist.

Wir glauben also, daß wir berechtigt sind, zu erklären, daß das Zusammenbringen von Toxin mit Antitoxin die Bildung von Stoffen mit geringerem Haftdrucke nicht verursacht, weil es keinen Einfluß auf die Oberflächenspannung der aus den Mischungen Toxin und Antitoxin entstandenen Flüssigkeiten nach 2stündigem Aufenthalte im Brutschranke bei 37° hat.

Wie weit sich diese Behauptung auch auf die anderen Antigene und Antikörper erstreckt, läßt sich bis jetzt, soweit wir in unseren Untersuchungen herausgefunden haben, noch nicht sagen.

Die Oberflächenspannungsveränderungen in den Immunreaktionen wurden von Ascoli studiert, aber auch aus seinen Untersuchungen konnte bisher über das Wesen der Reaktion nichts Sicheres festgestellt werden; vielleicht könnte man sagen, daß entweder die Meiostagmine noch keine zwischen die bekannten Antikörper eingereihten Stoffe sind (Ascoli selbst ist dieser Meinung), oder daß die Meiostagminreaktion, die immer gute Resultate bei den Untersuchungen von Ascoli und anderen und auch in diesem Laboratorium[1]) ergeben hat, eine bio-physische, die Immunreaktionen begleitende Veränderung sei [Micheli und Cattoretti[2])]. Man könnte viel über diese Frage sagen, aber dies würde von unserem Thema abweichen. Auf jeden Fall werden weitere Untersuchungen ergeben, welche der beiden Hypothesen richtig ist.

[1]) Abbo, Pathologica 1910, 280.

[2]) Micheli und Cattoretti, Münch. med. Wochenschr. 1910, 1122.

Über chemische und physiologische Eigenschaften des Triphenylstibinsulfids.

Von

Ludwig Kaufmann.

(Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 5. August 1910.)

Vor längerer Zeit hatte ich in den Ber. d. Deutsch. chem. Ges. eine Arbeit[1]) über Triphenylstibinsulfid veröffentlicht, in der ich mitteilte, daß es mir gelungen ist, diese bis dahin als nicht existenzfähig betrachtete Verbindung als eine wohl charakterisierte, ausgezeichnet krystallisierende, im isolierten Zustande sehr beständige Substanz zu erhalten. Die Isolierung dieser Verbindung bot deshalb ein besonderes Interesse, weil die früheren von A. Michaelis und Reese[2]) zu ihrer Darstellung unternommenen Versuche gescheitert waren und weil insbesondere das Verfahren, das mich in einfacher und glatter Weise zum Ziele führte, unter den von den genannten Forschern gewählten Bedingungen stets statt des erwarteten Sulfids seine beiden Spaltstücke, Triphenylstibin und Schwefel, lieferte. Das nähere Studium der Eigenschaften des Sulfides ließ ohne Schwierigkeiten die Ursachen erkennen, warum die genannten Forscher nicht zu dem gewünschten Resultate gelangen konnten, indem es sich nämlich zeigte, daß bei der von ihnen angewandten Arbeitsweise sich zwar primär das Sulfid bilden muß, daß

---

1) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 2762, 1908.

2) Annal. d. Chem. 233, 44, 1886.

dieses aber im weiteren Verlauf in eine komplexe Antimonverbindung übergeht, die nun ihrerseits in Triphenylstibin und Schwefel zerfällt. Bei flüchtiger Betrachtung des Vorganges erscheint es daher, als ob einfach das zunächst gebildete Sulfid im Sinne der Gleichung

$$(C_6H_5)_3Sb \mid S = (C_6H_5)_3Sb + S$$

sich spaltete. Wenngleich dies also nicht der Fall ist, so besitzt doch tatsächlich das einmal isolierte Sulfid die Eigenschaft, sehr leicht, schon durch gelinde chemische Eingriffe, ja selbst beim Ausscheiden aus seinen Lösungen, im Sinne vorausstehender Gleichung zu zerfallen.

Es war nun der Gedanke recht naheliegend, die neue Verbindung wegen ihrer Fähigkeit, schon so außerordentlich leicht Schwefel abzuspalten, der sich ja alsdann in nascenter und daher besonders wirksamer Form abscheiden muß, auf ihre therapeutische Verwertbarkeit als Schwefelpräparat zu prüfen. Da nun das Anwendungsgebiet der Schwefeltherapie fast ausschließlich im Bereiche der Dermatologie liegt, so wurden die klinischen Untersuchungen bisher nur nach dieser Richtung hin unternommen. Dank dem großen Interesse, das Herr Sanitätsrat Dr. Max Joseph dem Präparate entgegenbrachte, und dem umfangreichen Material, das in seiner Poliklinik zur Verfügung stand, konnten die klinischen Versuche im größeren Maßstabe durchgeführt werden. Das Ergebnis derselben wird den Gegenstand einer besonderen Publikation bilden; hier sollen nur die als Ausgangspunkt für die klinischen Prüfungen dienenden leitenden chemischen Gesichtspunkte erörtert und über die zu ihrer Unterstützung ausgeführte Experimentaluntersuchung berichtet werden.

Wenn wir uns auf den Standpunkt stellen, daß die physiologischen und pathologischen Vorgänge im Organismus in letzter Linie auf chemische Reaktionen zurückzuführen sind, so tritt uns hier die prinzipielle Frage entgegen, welche Vorgänge auf oder in der Haut sind es, die den Schwefel zu einer therapeutischen Einwirkung befähigen und welcher Art ist diese Wirkungsweise, die ev. den pathologischen Prozeß zu einem physiologischen zurückführen kann. Aus dieser Betrachtungsweise ergibt sich ohne weiteres der Arbeitsgang für die vor-

liegende Untersuchung, der demnach die Aufgabe zufällt, einmal die für die Schwefeltherapie maßgebenden chemischen Vorgänge auf der Haut nach Möglichkeit einer eingehenderen Würdigung zu unterziehen und zweitens die Beeinflussung dieser Vorgänge durch das Triphenylstibinsulfid zu studieren.

I. Chemische Vorgänge auf der Haut.

Es ist das große Verdienst von Unna, gezeigt zu haben, daß es im hohen Grade wahrscheinlich ist, daß der pathologische Vorgang auf der Haut, der durch die Schwefeltherapie beeinflußbar ist, eine Hyperoxydation darstellt und daß die therapeutische Einwirkung des Schwefels als Reduktionswirkung aufzufassen ist. Der Anschauung von Unna liegt die von ihm aufgestellte Theorie der Verhornung zugrunde. Nach dieser vollzieht sich als physiologischer Vorgang auf der Epidermis ein Oxydationsprozeß, der die Bildung von Horn und hornartigen Stoffen (Nägel, Klauen, Haare, Federn) aus den tieferliegenden Hautschichten bedingt. Chemisch ist die Hornbildung durch das Auftreten von Keratin, einem zusammengesetzten Eiweißkörper, charakterisiert, für den der Gehalt an Tyrosin nach der Ansicht von Unna das hervortretende Merkmal ist. Das Keratin soll aus dem an dem Aufbaue der tiefer liegenden Hautschichten beteiligten Keratohyalin, einem gleichfalls sehr kompliziert zusammengesetzten Eiweißkörper, entstehen und letzteres selbst aus dem Protoplasma hervorgehen. Diese Theorie von Unna hat durch eine vor kurzem erschienene Arbeit des französischen Forschers Brisson[1]), über die später noch eingehender gesprochen werden soll, eine Erweiterung erfahren. Auf Grund seiner Forschungen nimmt dieser Autor nämlich an, daß das Keratin selbst weiter zerfällt, indem es unter Abgabe von Schwefel, der hierbei zu Schwefelsäure oxydiert wird, in einen einfacher konstituierten Eiweißkörper übergeht. Die gebildete Schwefelsäure wird nach seiner Meinung in den Kreis der Körpersäfte gezogen und dort zur Fixierung von Stoffen von phenolartigem Charakter und zur Bildung von Salzen mit Alkaloidbasen verwendet. Obwohl die Arbeit von Brisson einen recht hypothetischen Charakter trägt, so wäre es immerhin möglich, daß ein derartiger Zerfall des Keratins eintritt, das ja bekanntlich in beträchtlichen Mengen ein schwefelhaltiges Eiweißprodukt, das Cystin, enthält. Das Auftreten von Tyrosin neben Keratin, dem Unna eine besondere Bedeutung beilegt, könnte alsdann dadurch seine Erklärung finden, daß die gebildete Schwefelsäure durch Hydratisation weiterhin aus dem Keratin Tyrosin abspaltet, eine Reaktion, die sich tatsächlich ohne besondere Schwierigkeit in vitro ausführen läßt. Will man diesen Anschauungen über den

---

[1]) Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie 10, 1909; vgl. auch Dermatologisches Centralblatt 13, 1104, 1910.

physiologischen Verhornungsprozeß einen schematischen Ausdruck geben, so könnte dies in folgender Weise geschehen:

Protoplasma
→ Keratohyalin
→ Keratin — (Cystin)
→ Schwefelsäure
↓
Tyrosin.

Wenngleich diese Theorien noch sehr der experimentellen Stützen bedürfen, so können sie als Arbeitshypothesen doch wohl akzeptiert werden, um so mehr, da sie sehr wohl in Einklang stehen mit der doch als feststehend zu betrachtenden Tatsache, daß sich der Hautbildungsprozeß und der mit dem physiologischen Prozeß an der Oberfläche sich vollziehende Abbau in einer Reihe von übereinanderliegenden und ineinander übergehenden Schichten vollzieht, die durch bestimmte, untereinander in einem genetischen Zusammenhang stehende chemische Individuen charakterisiert sind. Wenn man sich diesen physiologischen Prozeß der Verhornung chemisch näher besieht, so erinnert er in hohem Grade an einen Vorgang, der sich in der anorganischen Natur im großen Maßstabe abspielt, ich meine, an die Verwitterung. Wie bei dieser durch den Einfluß der Atmosphärilien ein allmählicher Abbau der obersten Gesteinschichten stattfindet und diese in einfacher zusammengesetzte Substanzen überführt, so erscheint mir die Verhornung als Analogon in der organisierten Natur. Wie weitgehend ist doch z. B. die Ähnlichkeit zwischen dem nach Brisson stattfindenden Abbau des Keratins einerseits und demjenigen des wichtigsten Schwefelproduktes in der anorganischen Natur, des Eisenkieses, andrerseits. Wir wissen, daß dieser an der Luft durch Oxydation freie Schwefelsäure bildet, die nun ihrerseits ihre Wirkung auf die Umgebung ausübt und vor allem mitvorkommende Tonerde unter Bildung von Tonschiefer in Tonerdesulfat überführt. Wenn nun bei der Verwitterung die Hauptfaktoren die Atmosphärilien sind, also außer Sauerstoff auch noch Kohlensäure und Wasser eine Rolle hierbei spielen, so fragt es sich, ob nicht auch bei der Verhornung noch andere Faktoren maßgebend sein könnten. Und da halte ich es für angebracht, noch auf einen anderen chemischen Prozeß hinzuweisen, der zu der Hornbildung, wie mir scheint, in ziemlich enger Beziehung steht, es ist dies der Gerbeprozeß, durch den künstlich eine chemische Veränderung im großen Maßstabe mit der tierischen Haut vorgenommen wird, um diese in Leder überzuführen. Wenn man die physikalischen Eigenschaften von Horn und Leder in vergleichender Weise betrachtet, so erscheint es, als ob diese Umwandlungsprodukte der tierischen Haut in recht nahen verwandtschaftlichen Beziehungen zueinander stehen. Es

würde hier zu weit führen, wenn auf die Einzelheiten des Lederbildungsprozesses näher eingegangen werden würde; auf den einen Punkt muß aber hingewiesen werden, daß nämlich die Überführung der Haut in Leder vorwiegend ein chemischer Prozeß ist, bei dem die Oxydation einen hervorragenden Anteil hat. (Näheres darüber findet man in der interessanten Arbeit von Fahrion[1]) über die Vorgänge bei der Lederbildung.) So unterschiedlich auch die verschiedenen Gerbeverfahren und die zu denselben verwendeten mannigfachen Gerbstoffe sind, so haben sie doch alle ein gemeinsames Merkmal, indem sie sämtlich aktionsfähigen Sauerstoff enthalten, der mit der Haut in Reaktion tritt. Wir wissen aber auch, daß außer Sauerstoff noch eine Reihe anderer Faktoren bei dem Lederbildungsprozeß eine gewichtige Rolle spielen, sei es durch katalytische Beeinflussung des Oxydationsprozesses, sei es durch direkten Eingriff in den Umwandlungsprozeß der Haut. So wird beispielsweise bei dem Gerbeverfahren, das als Sämischgerbung bezeichnet wird und das im wesentlichen in der Behandlung der Haut mit einer ungesättigten Fettsäure, z. B. Rapsöl, besteht, angenommen, daß, nachdem die Haut unter der Einwirkung des Öls Sauerstoff aufgenommen hat, weiterhin eine salzartige Verbindung der teilweise oxydierten, als Base figurierenden Hautfaser mit der Fettsäure eintritt. Vielleicht spielen diese Prozesse bei den physiologischen Vorgängen auf der Haut weniger eine Rolle als bei den pathologischen, obwohl zwar Brisson aus seinen Versuchen schließt, daß die Körpersäfte in hohem Grade auf den Oxydationsprozeß fördernd einwirken. Bei den pathologischen Prozessen könnten aber möglicherweise andere Stoffe einen recht bedeutungsvollen Einfluß haben. So hat Brisson bei seinen Untersuchungen nachgewiesen, daß die Ekzem- und Pemphigus-Sekretionen in hohem Grade chlornatriumhaltig sind und daß die Oxydationsvorgänge, durch die die destruktive Wirkung auf der Haut zustande kommt, ganz bedeutend durch die Gegenwart von Chlornatrium gesteigert werden. Andrerseits wird von Finkelstein bei Säugingsekzemen einer salzarmen und gleichzeitig eiweiß- und fettreichen Kost eine nachhaltige Beeinflussung zugeschrieben. Nun besteht aber, wie G. Rosenfeld bewies, eine Beziehung zwischen Diät und Hauttalgerzeugung, indem bei Fettkost weniger Hauttalg entsteht wie bei Kohlenhydraternährung. Vielleicht bildet die Brücke zur Erklärung dieser Erscheinungen die auf den Oxydationsvorgang ausgeübte katalytische Wirkung von seiten der Fettsäuren, die sich ja aus dem Hauttalg leicht bilden können. In ähnlicher Weise dürfte es eine große Reihe von anderen Einwirkungen geben, die im Zusammenhang mit den Stoffwechselanomalien eine rückwirkende Beeinflussung auf den normalen Oxydationsprozeß der Haut ausüben. Es wäre denkbar, daß sich dieser Prozeß in normaler Weise mit einer ganz bestimmten Reaktionsgeschwindigkeit vollzieht und daß jede Änderung zu pathologischen Prozessen führt, sei es, daß dieser Prozeß zu rasch vor sich geht, sodaß

---

[1]) Zeitschr. f. ang. Chem. 22, 2083 ff., 1909.

also Krankheitserscheinungen auftreten, die auf eine Hyperoxydation zurückzuführen sind, sei es, daß er zu langsam stattfindet, so daß man also von einer Suboxydation sprechen könnte, deren symptomatische Kennzeichen darin beständen, daß eben die Keratin- und Hornbildung zu langsam erfolgt, so daß die als Schutzdecke dienende Schicht mechanischen, chemischen und bakteriellen Eingriffen gegenüber nicht mehr den unter normalen Verhältnissen entgegengesetzten Widerstand zeigt. Im Sinne dieser Auffassung wäre also bei einer Anomalie des Oxydationsvorganges auf der Haut von zwei Krankheitsgebieten zu sprechen, die als Hyperkeratosen und Hypokeratosen zu bezeichnen wären, und wenn Brisson in der Zusammenstellung seiner Forschungsergebnisse sagt: Die Bildung oder die Zerstörung des Keratins ist dasjenige Problem, das den Dermatologen am lebhaftesten interessiert, so sind damit auch die Aufgaben gekennzeichnet, die der Therapie auf diesem Gebiete zufallen.

Als souveränes Therapeutikum für das Gebiet der Hyperkeratosen wird schon seit alten Zeiten der Schwefel verwendet. Im Einklang mit den oben auseinandergesetzten Anschauungen wird seine Wirkungsweise als diejenige eines Reduktionsmittels jetzt allgemein angenommen, während man früher der Ansicht war, daß die Beeinflussung von pathologischen Zuständen durch die Bildung von Schwefelwasserstoff bedingt sei. Brisson hat nun weiterhin die Theorie aufgestellt, daß die Wirkung und der Wirkungsgrad eines Schwefelpräparates proportional der aus demselben durch Oxydation gebildeten Schwefelsäure sei und daß die quantitative Bestimmung der letzteren einen Maßstab für die Beurteilung der Wirkungsfähigkeit des Schwefelpräparates darstellt. Obwohl zur Sicherung dieser Theorie der Nachweis fehlt, daß auf der Haut durch die betreffenden Therapeutika tatsächlich Schwefelsäure entsteht und daß mit der fortschreitenden Bildung derselben eine Beeinflussung der Hyperkeratosen eintritt, so hat doch Brisson durch seine Untersuchungen dieser Theorie insofern einen gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit gegeben, als er zeigen konnte, daß in allen Fällen, wo in der Schwefelmedikation intensivere Wirkungen erzielt werden, sei es durch besondere Anwendungsformen des Schwefels, z. B. als kolloidaler Schwefel, sei es durch Zugabe von besonderen Präparaten, wie z. B. Zinkoxyd, Resorcin, Salicylsäure u. a., daß alsdann auch nachweisbar die Oxydationsfähigkeit des Schwefels in beträchtlichem Maße gesteigert wird. So wurde z. B. bestimmt, daß, wenn man Schwefel mit einer physiologischen Kochsalzlösung bei einer Temperatur von 40° sich selbst überläßt, nach 24 Stunden eine bestimmte Menge Schwefelsäure gebildet ist. Diese Menge ist unter den gleichen Bedingungen bei Anwendung von kolloidalem Schwefel 20 bis 30mal größer als bei präcipitiertem Schwefel und sie wird bereits um das ca. 15fache gesteigert, wenn wir dem präcipitierten Schwefel eine bestimmte Menge Salicylsäure zugeben, was den Tatsachen in vollem Maße Rechnung trägt, indem bekanntlich mit der Schwefelsalicylpaste in vielen Fällen eine erhöhte Einwirkung erzielt wird.

II. Untersuchung über die Wirkungsfähigkeit des Triphenylstibinsulfids.

Wenn man sich auf den Standpunkt stellt, daß die von Unna und Brisson aufgestellten Theorien doch einen sehr in Betracht kommenden Grad von Wahrscheinlichkeit besitzen und daß die daraus abgeleitete Brissonsche Methode zur Prüfung des Wirkungsgrades der Schwefelpräparate recht wertvolle Anhaltspunkte liefern kann, so war es gegeben, diese Prüfung auch mit dem Triphenylstibinsulfid auszuführen.

Nun zeigt aber eine nähere Betrachtung der Brissonschen Werte, daß sie von einer Größenordnung sind, die unter Berücksichtigung der als Ausgangspunkt benutzten Mengen eine große Zuverlässigkeit für die Beurteilung der graduellen Wirkungen nicht besitzen können. So gibt er z. B. an, daß bei dem oben erwähnten Versuch — 10 g Schwefel mit physiologischer Kochsalzlösung bei 40° während 24 Stunden zusammengebracht — 0,0576 g Bariumsulfat erhalten wurde. Rechnet man diese Zahl um, so heißt dies, daß ca. 0,01 g Schwefel, also 1 ‰ in Schwefelsäure umgewandelt worden waren. Nun ist aber die Grenze der Genauigkeit bei unseren gewöhnlichen analytischen Methoden schon bei $^1/_{10}$ % erreicht, so daß also von den durch die Brissonschen Untersuchungen erhaltenen Zahlen höchstens solche zum Vergleiche über die Wirksamkeit herangezogen werden können, die sehr große Differenzen aufweisen, wie dies bei dem oben angeführten Beispiel von Schwefel als solchem einerseits und andererseits bei gleichzeitiger Anwesenheit von Salicylsäure der Fall ist.

Um nun das Stibinsulfid im Sinne der Brissonschen Versuche zu prüfen und mit der Wirkung des Schwefels zu vergleichen, erschien es mir vorteilhaft, Bedingungen zu wählen, von denen zu erwarten war, daß sie größere und daher zuverlässigere Werte, als dies die Brissonschen sind, lieferten. Ich ging dabei von der Erwägung aus, daß bei gleichgewählten günstigeren Bedingungen ein Vergleich durchaus zulässig sei, da doch hierbei nur die individuelle Reaktionsfähigkeit das Maßgebende sein muß. Vor allem erschien es mir notwendig, die Menge des oxydierenden Mediums zu vergrößern; denn bei den Brissonschen Versuchen ist es doch nur der von dem Wasser oder der Kochsalzlösung aufgenommene Sauerstoff der

Luft, der die Oxydationswirkung hervorrufen kann, während die andern bei den speziellen Versuchen noch anwesenden Stoffe wohl nur katalytische Wirkungen, sei es reaktionsfördernd oder -hemmend, ausüben. Unter Berücksichtigung der Vorstellungen, die sich in neuerer Zeit über die Oxydationsvorgänge in der organischen Natur herausgebildet haben, und die in Anlehnung an die alte Traubesche Theorie, daß das Wasserstoffsuperoxyd hierbei eine große Rolle spielt, zur Annahme von peroxydartigen Fermenten geführt haben, hielt ich es für zweckmäßig, den Oxydationsvorgang bei Anwesenheit von Wasserstoffsuperoxyd zu studieren.

Der erste orientierende Versuch bestand darin, daß 1 g Stibinsulfid mit 10 ccm einer ca. 7 bis 8%igen neutral reagierenden, aus Merckschen Perhydrol bereiteten Wasserstoffsuperoxydlösung einige Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen wurde. Es zeigte sich hierbei, daß die weiße Farbe des Präparates in eine hellgelbe überging, und daß sein krystallinischer Habitus vollkommen verschwand. Die durch Filtration von der festen Substanz getrennte Flüssigkeit zeigte eine stark saure Reaktion und gab auf Zusatz von verdünnter Salzsäure eine milchige Trübung. Die diese Trübung verursachende Ausfällung ließ sich durch mehrmaliges Filtrieren der Flüssigkeit vollkommen auf einem Filter sammeln, so daß die Lösung schließlich vollständig klar erhalten wurde. Der Schmelzpunkt dieses Niederschlags wurde zu 140 bis 142° gefunden [$(C_6H_5)_3SbCl_2$ besitzt den Schmelzpunkt 143°]. Das salzsaure Filtrat gab auf Zusatz von Chlorbarium eine beträchtliche Fällung von Bariumsulfat. Aus diesen Wahrnehmungen kann die Schlußfolgerung gezogen werden, daß das Triphenylstibinsulfid schon bei gewöhnlicher Temperatur durch verdünnte Wasserstoffsuperoxydlösung in bedeutendem Maße oxydiert wird, indem aus dem Schwefel Schwefelsäure gebildet wird, während der Rest des Moleküls in eine (in Wasser etwas lösliche und daraus durch verd. Salzsäure als Stibindichlorid wiederum fällbare) Verbindung übergeht, die — abgesehen von den geringen in Wasser gelösten Mengen — als gelbes amorphes Pulver zurückbleibt.

Es fragt sich nun, was ist dieser den Antimonrest enthaltende Rückstand, der nach mehrmaligem Auswaschen mit

kaltem Wasser und Trocknen im Dampfschranke den Schmelzpunkt von 235° zeigte. Zunächst konnte festgestellt werden, daß er sich in Eisessig beim Erwärmen vollständig löst und aus dieser Lösung beim Erkalten und Verdünnen mit Wasser als eine bei 212° schmelzende Verbindung erhalten wird [$(C_6H_5)_3Sb(OH)_2$ besitzt den Schmelzp. 212°], während nach Abfiltrieren dieses Niederschlages im klaren Filtrat Schwefelsäure nachweisbar ist. Aus diesem Verhalten bzw. aus den angeführten Reaktionen kann demnach gefolgert werden, daß, während der Schwefel des Stibinsulfids in Schwefelsäure übergeht, der Rest des Moleküls, also das Triphenylstibin, zu Triphenylstibinhydroxyd oxydiert wird, das sich mit der Schwefelsäure zu Stibinsulfat verbindet, wofür ja der Umstand spricht, daß sich in dem Rückstand vom Schmelzpunkt 235° sowohl das Stibinhydroxyd als auch die Schwefelsäure einwandsfrei nachweisen lassen. Auch die durch Salzsäure in der wässerigen Lösung erzeugbare Fällung vom Schmelzpunkt 142° (Stibinchlorid) kann durch die Annahme der Bildung von Stibinsulfat erklärt werden, indem dieses in geringen Mengen in Wasser löslich ist und hieraus durch Salzsäure in Form des Chlorides abgeschieden wird. Da nun aber ein Teil der Schwefelsäure als im freien Zustande vorhanden festgestellt wurde, so muß weiterhin noch gefolgert werden, daß das gebildete Sulfat ein basisches Sulfat sein muß. Über die Zusammensetzung dieses basischen Sulfats, wie auch über die Menge der freien Schwefelsäure, kann natürlich nur ein quantitatives Studium der Reaktion Aufschluß geben; es läßt sich aber der Oxydationsvorgang ganz allgemein durch nachfolgende Gleichungen ausdrücken:

a) $x(C_6H_5)_3SbS + xH_2O_2 = x(C_6H_5)_3Sb(OH)_2 + xS,$

b) $xS + 3xH_2O_2 = xH_2SO_4 + 2xH_2O,$

c) $x(C_6H_5)_3Sb(OH)_2 + (x-1)H_2SO_4 = [(C_6H_5)_3Sb]_x[SO_4]_{x-1}[OH]_2 + 2(x-1)H_2O$

oder zusammengefaßt:

$$x(C_6H_5)_3SbS + 4xH_2O_2 = [(C_6H_5)_3Sb]_x[SO_4]_{x-1}[OH]_2 + H_2SO_4 + 2(2x-1)H_2O.$$

Die zur Auswertung der in vorstehenden Gleichungen enthaltenen Größe x ausgeführten quantitativen Versuche seien nachfolgend geschildert:

Zunächst wurde eine genau abgewogene Menge des Stibinsulfides (1,4436 g) mit einer frisch bereiteten 5%igen Perhydrol-

lösung (35 ccm) versetzt, das Reaktionsgemisch bei gewöhnlicher Temperatur sich selbst überlassen und in Zeitabständen von ca. 20 Stunden die gebildete Menge freie Schwefelsäure durch Titration mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge unter Anwendung von Phenolphthalein als Indicator bestimmt. Der Reaktionsverlauf wird durch nachfolgende Daten illustriert:

9. XII. 09	12^h	—	ccm	$^1/_{10}$ n-NaOH
9. „ „	5^h	3,8	„	„
10. „ „	1^h	9,2	„	„
11. „ „	$12^3/_4{}^h$	4,3	„	„
13. „ „	$4^1/_2{}^h$	1,6	„	„
14. „ „	$12^1/_2{}^h$	0,6	„	„
		19,5	ccm	$^1/_{10}$ n-NaOH.

Die innerhalb der angegebenen Zeiten abgespaltene Menge freie Schwefelsäure hatte also am zweiten Tage ihr Maximum erreicht und nahm von da ab beständig ab, so daß am fünften Tage die Reaktion als beendigt angesehen werden konnte. Berechnet man die Menge der Schwefelsäure, die sich aus der angewandten Substanzmenge (1,4436 g) bilden kann, so wären zu deren Neutralisation 74,6 ccm $^1/_{10}$ n-NaOH erforderlich. Die durch den Versuch gefundene Menge (19,5 ccm) beträgt also ca. $^1/_4$ (74,6/4 = 18,7) der berechneten.

Es fragt sich nun, ob man diesen Wert ohne weiteres in die oben aufgestellten Gleichungen einsetzen kann oder nicht, d. h. ob man annehmen darf, daß die Reaktion in dem Sinn eine vollständige war, daß kein unverändertes Stibinsulfid mehr vorhanden ist. Der Schmelzpunkt des Reaktionsproduktes (ca. 200°) machte es zwar schon wahrscheinlich, daß sich das Sulfid (Schmelzp. 119°) zum allergrößten Teil mit dem Wasserstoffsuperoxyd umgesetzt hatte; es erschien mir aber noch erforderlich, das Studium des Oxydationsprozesses, der doch nach der herrschenden Anschauung der Dermatologen für die Deutung der therapeutischen Wirksamkeit als maßgebend anzusehen ist, in einer noch exakteren Weise durchzuführen, und zwar unter Berücksichtigung einer Reihe von Momenten, die sich bei der vorausstehend geschilderten Ausführung des Versuches als Fehlerquellen zu erkennen gegeben hatten. Es wurde nämlich beobachtet, daß bei der Anwendung von Phenolphthalein

als Indicator der Farbenumschlag nicht sehr scharf eintrat, was auf die Anwesenheit von unzersetztem Wasserstoffsuperoxyd zurückgeführt wurde. Daher wurde es als erforderlich angesehen, das Wasserstoffsuperoxyd vor Ausführung der Titration zu zerstören. Dann zeigte es sich, daß stets nicht unbeträchtliche Mengen von Alkali aus dem Glase bei der langen Dauer des Versuches in die Lösung gingen und demgemäß entsprechende Mengen der freien Schwefelsäure durch die Titration nicht zur Feststellung gelangen konnten. Daher erschien es auch geboten, die Verwendung von Glasgefäßen bei der späteren Ausführung des Versuches auszuschließen. Schließlich zeigte es sich, daß der Verlauf des Oxydationsprozesses durch die Temperatur außerordentlich beeinflußt wird, indem bei höheren Temperaturen wesentlich größere Mengen (bei 70 bis 80° zirka das Doppelte) an freier Schwefelsäure gebildet werden als bei niedrigeren. Aus diesem Grunde wurden die weiteren Versuche bei konstanter Temperatur vorgenommen und als solche, entsprechend dem Verwendungszweck der Verbindung, die Temperatur der Blutwärme gewählt und der Oxydationsprozeß im Brutraume (36 bis 37°) ausgeführt.

Unter Berücksichtigung dieser verschiedenen Momente gestaltete sich die Ausführung in der Weise, daß die gewogene Menge des Präparates in eine Quarzschale gegeben und darin mit 50 ccm einer 5%igen Wasserstoffsuperoxydlösung übergossen wurde, die durch entsprechendes Verdünnen des Merckschen 30%igen Perhydrols in einer Platinschale bereitet wurde. Die offene Quarzschale wurde, damit bei der Temperatur des Brutraumes durch Verdunsten des Wassers die Konzentration der Wasserstoffsuperoxydlösung sich nicht ändere, mit einem Uhrglas bedeckt in einen Exsiccator gebracht, auf dessen Boden sich Wasser befand und der verschlossene Exsiccator alsdann im Brutraume aufgestellt. Nachdem der frühere Versuch gezeigt hatte, daß bei gewöhnlicher Temperatur nach Verlauf von 5 Tagen fast keine freie Schwefelsäure mehr abgespalten wurde, also die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxyds auf das Sulfid offenbar nach dieser Zeit beendet war, wurde nunmehr die freie Schwefelsäure nicht etappenweise, sondern insgesamt am 6. Tage bestimmt, so daß sich also die Reaktion ununterbrochen während 5 Tage bei der Temperatur des Brutraumes

vollzog. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die wässerige Flüssigkeit durch ein Filter, das sich in einem Platintrichter befand, in eine geräumige Platinschale abgegossen, der in der Quarzschale zurückgebliebene wie der auf dem Filter befindliche Rückstand mehrmals bis zum Verschwinden der sauren Reaktion ausgewaschen und die Flüssigkeit in der Platinschale auf dem Wasserbade zur Zerstörung des Wasserstoffsuperoxydes eingedampft. Der hierbei erhaltene, aus freier Schwefelsäure und aus dem in der Flüssigkeit gelöst gewesenen geringen Mengen Stibinsulfat bestehende Rückstand wurde alsdann mit einem größeren Quantum Wasser verdünnt, durch ein Filter in ein Becherglas gebracht und die Platinschale so lange mit Wasser ausgespült, bis die durch das Filter in das Becherglas abfließende Flüssigkeit keine sauere Reaktion mehr zeigte. Hierauf wurde der Inhalt des Becherglases mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge titriert. Um aber auch die Gewißheit zu haben, daß die Abspaltung der freien Schwefelsäure nach der für den Versuch angesetzten Zeit von 5 Tagen beendet gewesen war, wurde der auf dem Filter hinterbliebene Rückstand mit demjenigen in der Quarzschale befindlichen nochmals vereinigt, da derselbe von etwas grobkörniger Beschaffenheit war mit einem Achatpistill verrieben und erneut der Einwirkung von 50 ccm einer 5%igen Wasserstoffsuperoxydlösung während 4 Tage im Brutraum in analoger Weise ausgesetzt. Nachdem durch diese zweite Einwirkung, wie nachstehende Werte zeigen, nur mehr noch eine relativ sehr kleine Menge freie Schwefelsäure (entsprechend 0,6 ccm $^1/_{10}$ n-NaOH) abgespalten wurde, konnte die Reaktion als beendet angesehen werden.[1])

Einwirkungsdauer	$^1/_{10}$ n-NaOH
0,7063 g Substanz	
I. 4 Tage 20 Stunden	8,7 ccm
II. 3 „ $18^1/_2$ „	0,6 „
	gef.: 9,3 ccm
für $^1/_4$ von 0,7063 g Sulfid	ber.: 9,2 „

[1]) Daß auch tatsächlich alles Sulfid umgesetzt war, wurde noch durch eine besondere Untersuchung des Rückstandes erwiesen. Die essigsaure Lösung des Triphenylstibinsulfids gibt nämlich mit Bleiacetat einen Niederschlag von Bleisulfid. Die essigsaure Lösung des Rückstandes zeigte aber bei Ausführung dieser Reaktion keine Spur von Bleisulfid, so daß also die Oxydation als quantitativ vollzogen betrachtet werden konnte.

Es kann also nunmehr als bewiesen angesehen werden, daß bei diesem Oxydationsprozeß unter den angegebenen Bedingungen $^1/_4$ des Schwefels als freie Schwefelsäure abgespalten wird, so daß in den Gleichungen S. 75 der Wert $x = 4$ eingesetzt werden kann und somit die summarische Gleichung des Reaktionsvorganges lautet:

$$4\,(C_6H_5)_3SbS + 16\,H_2O_2 = \begin{matrix} (C_6H_5)_3Sb\langle^{OH} \\ \quad >SO_4 \\ (C_6H_5)_3Sb\langle \\ \quad >SO_4 \\ (C_6H_5)_3Sb\langle \\ \quad >SO_4 \\ (C_6H_5)_3Sb\langle_{OH} \end{matrix} + H_2SO_4 + 14\,H_2O$$

Es mag zunächst etwas gewagt erscheinen, auf Basis des quantitativen Nachweises, daß $^1/_4$ des Schwefels bei der Oxydation in freie Schwefelsäure übergeht und auf Grund des S. 74 u. 75 beschriebenen Befundes, nach dem Triphenylstibinhydroxyd und gebundene Schwefelsäure als Baustücke des Rückstandes nachgewiesen wurden, diesem die vorausstehende Zusammensetzung von 4 Triphenylstibinresten, 3 SO_4- und 2 Hydroxylgruppen zu geben. An sich bietet aber die Entstehung von basischen Salzen durchaus nichts Auffallendes, und wir wissen ja gerade vom anorganischen Antimon, daß es außerordentlich leicht befähigt ist, derartige Salze zu bilden und daß diese weitaus beständiger sind als die neutralen Salze. Immerhin erschien es zur Sicherstellung dieser Formel noch angezeigt, eine Schwefelbestimmung in dem erhaltenen Rückstande auszuführen. Dies geschah in der Weise, daß er im Dampfschranke getrocknet und nach der Methode von Pringsheim[1]) mit Natriumsuperoxyd verbrannt wurde.

0,2969 g Substanz (Schmelzp. 240° bis 243°):0,0833 g $BaSO_4$.

Hieraus ergibt sich ein Schwefelgehalt von 3,85%. Die Theorie verlangt aber für das oben angegebene Sulfat 5,69%. Da mir dieses Resultat als sehr überraschend erschien, so wurde noch eine zweite Bestimmung mit einer aus einem neuen Oxydationsversuch herrührenden, im Dampfschranke getrock-

---

[1]) Vgl. hierzu Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 1, 368, 1909. Berlin u. Wien.

neten Rückstandsprobe ausgeführt und auch bei dieser das gleiche Ergebnis erhalten: 0,2197 g Substanz (Schmelzp. 245° bis 247°) ergaben 0,0609 g $BaSO_4$ entsprechend 3,87 % Schwefel.

Diesem Schwefelgehalt entspricht aber die Verbindung

$$(C_6H_5)_3Sb\begin{matrix}\diagup OH\ OH \diagdown \\ \diagdown SO_4 \diagup\end{matrix}(C_6H_5)_3Sb,$$

die vor kurzem in einer in dem Journ. of the Chem. Soc. erschienenen Arbeit über organische Derivate des Antimons von Morgan, Micklethwait und Whitbey[1]) beschrieben und von diesen Forschern durch Einwirkung einer alkoholischen Lösung von Triphenylstibinchlorid auf eine kochende wässerige Silbersulfatlösung als eine bei 252° schmelzende Substanz erhalten wurde. Aus dieser Bildungsweise geht deutlich hervor, daß dieses Hydroxysulfat weit beständiger als das normale Sulfat ist, und daß letzteres unter den angegebenen Bedingungen durch die Einwirkung des heißen Wassers in ersteres übergeht. Da aber die von mir angenommene Verbindung

$$[(C_6H_5)_3Sb]_4[SO_4]_3[OH]_2$$

ihrer Zusammensetzung nach zwischen dem normalen Sulfat und dem von den englischen Forschern beschriebenen Hydroxysulfat liegt, so war es naheliegend, anzunehmen, daß beim Trocknen des nassen Rückstandes im Dampfschranke durch die Einwirkung des heißen Wassers ein Molekül Schwefelsäure austrat und die beständigere Verbindung mit einer SO_4-Gruppe entstand:

$$[(C_6H_5)_3Sb]_4[SO_4]_3[OH]_2 + 2\,H_2O = 2\,[(C_6H_5)_3Sb]_2[SO_4]\,[OH]_2 + H_2SO_4.$$

In der Tat zeigte auch das Filter, auf dem der nasse Rückstand gesammelt und bis zur völlig neutralen Reaktion ausgewaschen war, nach dem Trocknen eine Bräunung an den Rändern und beim Befeuchten mit Wasser und Prüfung mit Lackmuspapier eine sauere Reaktion, so daß also offenbar Schwefelsäure beim Trocknen frei und durch das Filter aufgesogen wurde. Um aber die volle Gewißheit zu haben, daß die für den Oxydationsprozeß aufgestellte Gleichung den Tat-

[1]) Journ. of the Chem. Soc. 98, 34, 1910.

sachen entspricht, wurde der bei einem neuen Oxydationsprozeß gewonnene Rückstand bei gewöhnlicher Temperatur im Exsiccator über Schwefelsäure bis zu konstantem Gewicht getrocknet und alsdann die Schwefelbestimmung vorgenommen.

0,2111 g Substanz (Schmelzp. 239° bis 240°): 0,0877 g $BaSO_4$

gef.: 5,71% Schwefel

für $[(C_6H_5)_3Sb]_4[SO_4]_3[OH]_2$ ber.: 5,56 „ „

Da das durch die Gleichung S. 80 illustrierte Verhalten des Rückstandes beweist, daß durch den Einfluß von Wasser von der Temperatur des Dampfschrankes nochmals ein Molekül freie Schwefelsäure abgespalten wird, so war zu erwarten, daß bei Ausführung des Oxydationsprozesses bei höherer Temperatur als derjenigen des Brutraumes die Menge der freien Schwefelsäure größer sein wird und bei entsprechender Erhöhung, gemäß dem Befunde nach dem Trocknen im Dampfschranke, das Doppelte der bei 36 bis 37° abgespaltenen sein muß. Ein zu diesem Zwecke ausgeführter Versuch ergab in der Tat, daß schon bei 70 bis 80° die Menge der abgespaltenen freien Schwefelsäure ungefähr die Hälfte der theoretisch möglichen beträgt, so daß also bei dieser Temperatur die Reaktion im Sinne nachfolgender Gleichung verläuft:

$$2(C_6H_5)_3SbS + 8H_2O_2 = (C_6H_5)_3Sb\langle{}^{OSO_2O}_{OHHO}\rangle Sb(C_6H_5)_3 + H_2SO_4 + 6H_2O.$$

Zur Ausführung des Versuches wurde 1 g Stibinsulfid mit 50 ccm einer 5%igen Perhydrollösung während 4 Tage täglich ca. 5 bis 6 Stunden in einem Erlenmeyerkolben auf dem Wasserbade auf ca. 70 bis 80° erhitzt.

1 g Stibinsulfid erforderte 27,5 ccm $^1/_{10}$ n-NaOH,

nach obiger Gleichung ber.: 26,2 „ „ „

Daß der gefundene Wert etwas höher als der berechnete ausfiel, mag wohl seine Erklärung darin finden, daß die Zersetzung noch etwas weiter gegangen war, da die gelb gefärbte Flüssigkeit schon etwas nach Phenol roch.

Nachdem die Brissonsche Arbeit über die Oxydations- und Wirkungsfähigkeit der Schwefelpräparate die Anregung zu den vorausstehend beschriebenen Versuchen gegeben hatte, erschien es schließlich auch noch geboten, den hier gefundenen

Wert, den von dem französischen Forscher gefundenen Werten in vergleichender Weise gegenüberzustellen. Es war zu diesem Zwecke natürlich nur erforderlich, ein Schwefelpräparat aus den von Brisson untersuchten herauszugreifen und in zahlenmäßige Beziehung zu dem Triphenylstibinsulfid zu bringen. Der Einfachheit halber wurde als Vergleichspräparat präcipitierter Schwefel genommen. Es erschien, da es sich ja nur um die Feststellung der relativen Beziehungen handelte, nicht notwendig, diesen Versuch in der minutiösen Weise wie bei dem S. 77 u. f. beschriebenen Hauptversuch auszuführen, sondern es wurden einfach je 1 g präcipitierten Schwefels und Stibinsulfid mit 50 ccm einer 5 %igen Wasserstoffsuperoxydlösung in einem Glasgefäß zusammengebracht und die beiden Proben gleichzeitig in den Brutraum gestellt. Nach 2 Tagen (genauer 51 1/2 Stunden) wurde filtriert, das noch vorhandene Wasserstoffsuperoxyd wiederum durch ca. 1/2 stündiges Kochen der Lösungen zerstört und die gebildete Schwefelsäure bestimmt.

Das von der Oxydation des Schwefels herrührende Filtrat enthielt nicht nur keine freie Schwefelsäure, sondern reagierte sogar alkalisch, offenbar wiederum durch das aus dem Glase gelöste Alkali bedingt. Eine Bestimmung durch Titration konnte daher nicht vorgenommen werden; die Bestimmung geschah infolgedessen gravimetrisch.

Der mit dem Stibinsulfid ausgeführte Parallelversuch ergab ein sehr stark sauer reagierendes Filtrat, dessen Schwefelsäuregehalt nach Zerstörung des Wasserstoffsuperoxyds durch Titration mit 1/10 n-Natronlauge sehr gut bestimmt werden konnte.

Es ergab der Versuch „1 g Schwefel“ die Bildung von 0,003 g Schwefelsäure, entsprechend 0,001 g Schwefel.

Der Versuch „1 g Stibinsulfid“ verlangte 14,4 ccm 1/10 n-Natronlauge, entsprechend 0,0705 g freie Schwefelsäure bzw. 0,023 g Schwefel.

Bei dem Schwefelversuch wurde also bei 36 bis 37° nur 1 pro Mille des zur Anwendung gebrachten Präparates oxydiert, eine Menge, die ungefähr dem von Brisson gefundenen Werte bei der Oxydation von präcipitiertem Schwefel in physiologischer Kochsalzlösung (0,006 g) entspricht. Die durch Oxydation des Sulfides gebildete freie Schwefelsäure ist, wie

sich aus dem Vergleiche der beiden Werte ergibt, um das 23fache größer als die unter den gleichen Bedingungen aus dem präcipitierten Schwefel entstandene. Wie nun aber oben ausführlich gezeigt wurde, gibt die Titration nur $^1/_4$ der tatsächlich aus dem Stibinsulfid entstandenen Schwefelsäure an, während das Dreifache der gleichen Menge zur Bindung der gebildeten Antimonbase verwendet wird, so daß also effektiv aus 1 g Stibinsulfid eine Schwefelmenge in Reaktion tritt, die der ganzen Menge des darin enthaltenen Schwefels entspricht. Der Schmelzpunkt des bei diesem Versuch erhaltenen Rückstands wurde, wie zu erwarten war, bei 235 bis 240° gefunden, entsprechend dem S. 79 besprochenen Hydroxysulfat; die zur Titration erforderliche $^1/_{10}$ n-Natronlauge entsprach gleichfalls ungefähr[1]) der von der Theorie verlangten (ber.: 13,1 ccm, gef.: 14,4 ccm).

Während also unter den gleichen Versuchsbedingungen von 1 g Schwefel nur 0,001 g, d. h. 1 pro Mille zur Ausübung ihrer reduzierenden Kraft kommen, findet dies bei dem Stibinsulfid in quantitativer Weise statt. Vom Standpunkte der Sauerstoffentziehung bzw. der Verhinderung der Oxydationswirkung bedeutet dies, daß durch 1 g Schwefel $\frac{48}{32} \times 0{,}001 = 0{,}0015$ g Sauerstoff gebunden werden, während durch 1 g Stibinsulfid, entsprechend der S. 79 angegebenen Gleichung $\frac{64}{83} \times 1 = 0{,}167$ g Sauerstoff aufgenommen wird, so daß also die Wirksamkeit des Stibinsulfides über 100mal größer als diejenige des präcipitierten Schwefels ist. Nachdem nun aber Brisson gezeigt hatte, daß von all den in der dermatologischen Praxis gebräuchlichen Schwefelpräparaten der kolloidale Schwefel dem präcipitierten in seiner oxydativen Wirkung am meisten überlegen ist, und zwar um das ca. 25fache, so beweisen die vorliegenden Versuche, daß das Triphenylstibinsulfid nicht nur im hohen Maße dem kolloidalen Schwefel, sondern auch alle anderen von Brisson untersuchten Schwefelpräparate in bezug auf die für die Therapie der Haut so bedeutungsvollen Reduktionsfähigkeit übertrifft.

---

[1]) Daß die Werte nur annähernd übereinstimmen, ist auf die Nichtberücksichtigung der S. 76 und 77 geschilderten Fehlerquellen zurückzuführen.

Außer in dieser großen Reduktionsfähigkeit besteht aber der Wert des Präparates auch noch darin, daß es absolut keine Reizerscheinungen auf der Haut hervorruft. Die Erklärung hierfür gibt eben die Bildung des Stibinsulfates, indem die durch Oxydation gebildete Schwefelsäure durch das gleichzeitig entstehende Stibinoxyd bzw. Hydrat gebunden wird. Zwar haben die hier geschilderten Versuche gezeigt, daß 25°/₀ der Schwefelsäure im freien Zustande vorhanden ist; wir dürfen aber nicht vergessen, daß die Abspaltung der Schwefelsäure einerseits eine Funktion der Temperatur ist (bei 70 bis 80° sehen wir, daß die Hälfte abgespalten wird), andererseits aber auch durch die Wirkung des gleichzeitig vorhandenen Wassers bedingt wird. Nun mußte aber zur praktischen Durchführung der Oxydationsversuche ein großer Überschuß von Wasser gewählt werden, einerseits um eben ganz verdünnte Wasserstoffsuperoxydlösungen in Anwendung zu bringen, andererseits um die Masse des Stibinsulfids mit dem Wasserstoffsuperoxyd in möglichst innige Berührung zu bringen. Auf der Haut hingegen werden die vorhandenen Flüssigkeits- bzw. Wassermengen gegenüber dem angewendeten Stibinsulfid naturgemäß sehr klein sein und wir dürfen vielleicht aus dem Umstande, daß bei Anwendung des Stibinsulfids keine Reizerscheinungen wahrzunehmen sind, während bei der Verwendung von Schwefel sehr häufig solche beobachtet werden, schließen, daß auf der Haut bei der therapeutischen Verwendung das normale neutrale Stibinsulfat, d. h. die Verbindung $(C_6H_5)_3SbSO_4$, gebildet wird. Die Existenz dieser Verbindung bei Abwesenheit von Wasser oder bei Anwesenheit von nur geringeren Mengen ist durch die S. 80 angeführte Arbeit von Morgan und seinen Mitarbeitern (l. c. S. 37) wahrscheinlich gemacht.

Wenn wir nun die Ergebnisse dieser experimentellen Untersuchungen nochmals kurz zusammenfassen, so läßt sich folgendes sagen:

1. Das Triphenylstibinsulfid ist befähigt, äußerst leicht sauerstoffentziehend auf Wasserstoffperoxyd (und wohl auch auf peroxydartige Substanzen) zu wirken.

2. Diese Reaktion vollzieht sich in der Weise, daß Schwefel abgespalten wird, der sich zu Schwefelsäure oxydiert, während sich der Stibinrest durch gleichzeitige Oxydation in Stibinoxyd

(bzw. Hydroxyd) verwandelt, das durch die gebildete Schwefelsäure in Sulfat übergeführt wird. — Bei Anwesenheit eines großen Überschusses von Wasser bildet sich ein basisches Hydroxysulfat, und $^1/_4$ der Schwefelsäure wird wiederum frei. Es ist anzunehmen, daß bei Ausschluß von Wasser oder Anwesenheit von nur geringen Mengen desselben freie Schwefelsäure nicht vorhanden ist und daher das normale neutrale Sulfat gebildet wird, das keine Reizerscheinungen auf der Haut hervorruft.

3. Die Reaktion verläuft bei einer Temperatur von 36 bis 37° quantitativ.

4. Verglichen mit der sauerstoffentziehenden Fähigkeit des gewöhnlichen Schwefels ist das Triphenylstibinsulfid über 100mal wirksamer als dieser.

Verhalten von Triphenylstibinsulfid im Tierkörper.

Von

Ludwig Kaufmann.

(Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 5. August 1910.)

Die in der voraufgehenden Mitteilung beschriebenen Eigenschaften des Triphenylstibinsulfids haben den Anlaß gegeben, das Stibinsulfid an Stelle von Schwefel in der Dermatologie zur Anwendung zu bringen. Wir wissen nicht, ob die Reaktionen auf oder in der Haut in der Weise verlaufen, wie sie uns das Experiment in vitro zeigt; das aber kann wohl gesagt werden, daß, wenn die Heilwirkung des Schwefels auf seinen reduzierenden Eigenschaften beruht, daß dann das Sulfid ein ihm vielfach überlegenes Therapeutikum sein muß, da es unter den gleichen Bedingungen viel reaktionsfähiger als dieser ist. In der Tat haben auch die klinischen Versuche gezeigt, daß das Präparat dem Schwefel in mannigfacher Hinsicht überlegen ist, worüber das Nähere in einer besonderen klinischen Arbeit mitgeteilt werden wird.

Es fragt sich nun, in welcher Form das Sulfid zu dermatologischen Zwecken angewendet werden soll. Das Beste wäre natürlich, wenn die Verwendung in gelöstem Zustande geschehen könnte. Nun ist aber die Verbindung in Wasser absolut unlöslich, in Alhohol schwer löslich, ebenso in Petroläther und Äther. Dagegen löst es sich leicht in Benzol, Chloroform und vor allem in Öl, wie Olivenöl und Ricinusöl. Diese Lösungen sind im großen Ganzen beständig, doch scheiden sie nach längerem Stehen allmählich Schwefel im krystallisierten Zustand ab; am haltbarsten sind noch die Lösungen in Olivenöl und Ricinusöl. Daß das Sulfid in diesen öligen Lösungen unverändert vorhanden ist, geht daraus hervor, daß man z. B. 1 g Sulfid mit 9 g Ricinusöl durch Erwärmung auf dem Wasserbad leicht in Lösung bringen kann und alsdann durch Zugabe von absolutem Alkohol (10 g), Abdunsten desselben und nunmehrigen Zusatz

von Petroläther die Sulfidkrystalle (vom Schmelzpunkt 115 bis 117°) unverändert zurückerhält. Allerdings sind höherprozentige Lösungen weniger haltbar, indem beobachtet wurde, daß aus einer 15 bis 20 %igen Lösung in Ricinusöl schon nach zwei Tagen eine Schwefelabscheidung eintrat. In Vaseline und Lanolin löst sich oder vielmehr verteilt sich das Sulfid in ausgezeichneter Weise. Es erschien daher zweckmäßig, wegen der doch nicht sehr großen Haltbarkeit der alkoholischen und öligen Lösungen das Sulfid in Salbenform zu verwenden. Ein speziell ausgeführter Versuch zeigte, daß selbst nach mehrmonatlichem Stehen aus einer 10 %igen Lanolin-Vaselin-Salbe das Stibinsulfid durch Aufstreichen der Salbe auf Watte, Extraktion derselben mit Petroläther (zur Entfernung der Fette) und darauffolgender Extraktion mit absolutem Äther das Sulfid unverändert vom Schmelzpunkt 119° zurückerhalten wurde.

Um jedoch bei der Anwendung das Präparat auch in gelöste Form zu bringen, wurden bei den klinischen Versuchen auf die zu behandelnden Hautstellen zuerst eine Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Ricinusöl aufgetragen und nach 5 bis 10 Minuten (nach Abdunstung des Alkohols) das Präparat als Vaselinesalbe eingerieben, wodurch es also gewissermaßen auf der Haut in Lösung gebracht wurde. Die Verwendung mit Traumaticinlösung hat sich nicht bewährt, weil scheinbar der Kautschuk des Traumaticins nach Abdunstung des Chloroforms doch die Substanz zu sehr umkleidet und daher der Reaktionswirkung leicht entziehen kann. Die Vaselinesalben wurden in verschiedenen Konzentrationen (5 bis 20 %) verwendet; außerdem wurden noch Pasten, das sind Mischungen von Vaseline, Stärke und Zinkoxyd, in ähnlichen Konzentrationen in Anwenwendung gebracht.

Bei der leichten Löslichkeit des Stibinsulfids in Öl (besonders in Olivenöl, wovon sich durch Erwärmen des Präparates auf dem Wasserbade ohne Schwierigkeit bis zu 20 %ige Lösungen herstellen lassen) war der Gedanke naheliegend, diese Lösungen in frisch bereitetem Zustande zu subcutanen Injektionen des Präparates zu verwenden, weil doch angenommen werden kann, daß die Wirkung alsdann eine noch viel intensivere als bei der lokalen Behandlung sein könnte. Da aber bei der Einführung der Verbindung in den Organismus mit der toxischen Wirkung des Antimons gerechnet werden muß, so schien hier vor allem eine orientierende Prüfung durch den Tierversuch geboten. Die Versuche wurden zunächst an Kaninchen und später an einem Hunde ausgeführt und hatten folgende Ergebnisse:

I. 0,5 g Sulfid in 5 ccm Olivenöl auf dem Wasserbade gelöst, wurden einem Kaninchen per os (durch die Schlundsonde) eingeführt. Nach 24 Stunden konnte keine besondere Wahrnehmung an dem Tiere gemacht werden; es wurden alsdann nochmals 1 g in 5 ccm Olivenöl gegeben. Das Tier machte nach Verlauf von zwei Tagen einen leidenden Eindruck, fröstelte und verweigerte die Nahrungsaufnahme. Trotzdem wurden nochmals 1 g in 5 ccm gegeben. Nach kurzer Zeit ging das Tier unter konvulsiven Krämpfen ein. Von dem eingeführten Stibinsulfid können wohl nur die am ersten und zweiten Tage gegebenen Mengen (1,5 g) zur Wir-

kung gekommen sein. Die Sektion ergab, daß die Magenschleimhaut stark maceriziert war. — Der Dünndarm war leer, der Urin enthielt Spuren von Eiweiß. Der wässerige Extrakt des Mageninhalts reagierte auf Kongopapier auffallend stark sauer. Schwefelsäure konnte in demselben nicht nachgewiesen werden.

II. Subcutane Injektion von insgesamt 1,75 g Sulfid bei einem Kaninchen.

1\. Tag . . . . 0,5 g in 2 ccm Oliv. inj.
2\. „ Tier munter und gefräßig.
3\. „ Tier weniger munter und weniger gefräßig . . . . 0,25 g in 1 ccm Ol. Oliv. inj.
4\. „ Kein Eiweiß im Urin . . . . . . 0,5 „ „ 2 „ „ „ „
5\. „ Tier befindet sich wohl.
6\. „ do. . . . . . . 0,5 „ „ 2 „ „ „ „
1,75 g.
7\. „ Lähmungserscheinungen der hinteren Extremitäten, Gleichgewichtsstörungen.
8\. „ Tier apathisch und regungslos; Pupillen eng, Urin eiweißfrei. Exitus.

Sektionsbefund: stark vergrößerte Leber, keine Verätzungen. Der stark alkalisch reagierende Urin wurde auf Antimon untersucht; er ergab nach Zerstörung der organischen Substanz einen deutlichen Schwefelwasserstoffniederschlag, der durch die Probe im Marshschen Apparat als von Antimon herrührend einwandsfrei identifiziert wurde.

Das Ergebnis dieser beiden Tierversuche machte es wahrscheinlich, daß Antimonvergiftungen die Todesursache waren. Immerhin war noch die Möglichkeit ins Auge zu fassen, daß ebenso wie beim Oxydationsprozeß mit Wasserstoffsuperoxyd[1]) freie Schwefelsäure im Organismus entstand und diese die Todesursache der Kaninchen gewesen wäre. Es ist bekannt, daß verdünnte Säuren ähnliche Erscheinungen wie die beobachteten bei Kaninchen hervorrufen, da dieselben im Gegensatz zu Hunden nicht imstande sind, die Säure durch die Körpersäfte zu neutralisieren. Um nun eine Entscheidung darüber zu treffen, ob man es mit einer reinen Antimonvergiftung oder einer Säurevergiftung zu tun hatte, wurde die Muttersubstanz des Sulfides, das Triphenylstibin $(C_6H_5)_3Sb$, bei dem also die Bildung einer Säure ausgeschlossen war, injiziert:

III. Subcutane Injektion von 2 g Triphenylstibin bei einem Kaninchen.

Die Injektionen erfolgten in vier Dosen von je 0,5 g, gelöst in 2 ccm Olivenöl. Nachdem dieselben von dem Tiere gut vertragen wurden, wurde der Versuch nach der 4. Injektion am 8. Tage abgebrochen; das Tier blieb auch noch eine Reihe von anderen Tagen vollkommen frisch und gefräßig. Die Beobachtung wurde dann noch fortgesetzt, und merkwürdigerweise stellten sich am 16. Tage die gleichen Lähmungserscheinungen wie bei den anderen Tieren ein und am 17. Tage kam es auch

[1]) Vgl. die vorhergehende Arbeit S. 74ff.

hier zum Exitus letalis. Aus dem Umstande, daß das Tier sich innerhalb der Zeit, die bei der Injektion mit dem Sulfid zum Tode führte, vollkommen frisch und gesund zeigte, war man anfangs versucht, anzunehmen, daß die Muttersubstanz ungiftig sei. Daß dies aber nicht zutrifft, zeigte der weitere Verlauf. Die Differenz in der Geschwindigkeit der Wirkung dürfte ihre Ursache darin haben, daß das aus dem Sulfid im Organismus gebildete Produkt leichter löslich ist und daher rascher zur Resorption kommt als das aus der Muttersubstanz entstehende Produkt. Es ist möglich, daß es im Organismus genau in der gleichen Weise zu einer Oxydation kommt und daß dann das gebildete Hydroxysulfat, das, wie festgestellt wurde (vgl. S. 75) immerhin etwas löslich ist, seine toxischen Wirkungen ausübt. Bei den Injektionen mit der Muttersubstanz würde alsdann eine Bildung von Stibinhydroxyd, $(C_6H_5)_3Sb(OH)_2$, in Frage kommen, bei dem man wegen der langsameren Wirkung annehmen könnte, daß es sich einerseits nicht so rasch bildet, andrerseits nur allmählich, vielleicht auch unter Übergang in ein basisches Salz, in die Körpersäfte übergeht. Die Berechtigung zu einer derartigen Annahme findet eine Bestätigung darin, daß eine Injektion mit der entsprechenden Jodverbindung, die nach Analogie mit dem von den S. 80 genannten englischen Forschern hergestellten Hydroxychlorverbindungen sehr leicht löslich sein muß, tatsächlich, wie ein besonderer Tierversuch zeigte, viel toxischer wirkt, indem schon 0,3 g innerhalb 2 Tagen zum Exitus führten.

Die Sektion des durch subcutane Triphenylstibininjektion zugrunde gegangenen Tieres zeigte weder an der Leber noch an anderen Organen irgendwie auffallende Veränderungen. Der in der gefüllten Harnblase vorgefundene Urin ergab zwar nach der Zerstörung der organischen Substanz auch eine Schwefelwasserstoffällung, die Probe derselben auf Antimon im Marshschen Apparat fiel aber negativ aus. Es konnte dies weiter nicht wundernehmen, nachdem doch nach Beendigung der Injektion bis zum Exitus 10 Tage verflossen waren. (Es war leider versäumt worden, den bei Lebzeiten des Tieres ausgeschiedenen Harn aufzufangen.)

IV. Subcutane Injektion, von 2 g Sulfid bei einem Hunde.

Um zu prüfen, ob vielleicht die Kaninchen nicht doch zu empfindlich gegen das Präparat sind, wurde schließlich noch eine subcutane Injektion bei einem Hunde vorgenommen und zwar auch wieder mit insgesamt 2 g in 2tägigen Dosen von je 0,5 g in 2 ccm Olivenöl gelöst. Auch hier traten die gleichen Erscheinungen wie bei den subcutan injizierten Kaninchen auf, allerdings entsprechend der größeren Widerstandsfähigkeit des Hundes sich über eine etwas längere Zeitdauer ausdehnend. Die Krankheitserscheinungen setzten hier am Anfang mit Diarrhöen ein. Die Lähmungserscheinungen der hinteren Extremitäten traten am 10. Tage auf. Das Tier wurde durch eine Chloroforminjektion ins Herz zum Exitus gebracht. Die Sektion ergab eine Vergrößerung der Leber.

Aus diesen Tierversuchen, bei deren Durchführung ich mich der liebenswürdigen Beratung und Unterstützung des Herrn Dr. H. Fischer (München)

erfreute, geht unzweifelhaft hervor, daß das Stibinsulfid bei subcutaner Injektion toxische Erscheinungen hervorruft. Es sei hier noch angefügt, daß bei sämtlichen Injektionen bei keinem der Tiere irgendwelche Reizerscheinungen an den Injektionsstellen beobachtet wurden.

Obwohl natürlich von einer klinischen Prüfung nach dieser Richtung vorläufig abgesehen werden muß, so ist es immerhin doch denkbar, daß bei geringerer Dosierung durch subcutane Injektion Heileffekte zu erzielen wären, wobei nicht ausgeschlossen erscheint, daß diese in doppelter Hinsicht hervorgebracht werden könnten, indem nicht nur die Wirkung des Schwefels, sondern auch diejenige des in seiner Wirkung dem Arsen sehr nahestehenden Antimons zur Geltung kommen könnte. Es entspräche ein derartiger Effekt der von P. Ehrlich[1]) in seinen Grundlagen der experimentellen Chemotherapie ausgesprochenen Anschauung, indem er es für möglich hält, daß sich das Protoplasma mit mehreren wirksamen Gruppen von Arzneimitteln verankert. Ob das Triphenylstibinsulfid und seine Analoga befähigt und berufen sind, der Therapie im Sinne dieser Ehrlichschen Auffassung zu dienen, könnte nur durch eine eingehende pharmakologische Untersuchung zur Entscheidung gebracht werden. Dem näher liegenden Ziele, das Triphenylstibinsulfid als lokales Mittel in der Hauttherapie zu verwenden, dürften wohl die Ergebnisse dieser vorstehenden Untersuchung das Wort reden, und in der Tat hat auch die klinische Prüfung, wie in der speziellen Arbeit über dieselbe gezeigt werden wird, im wesentlichen die theoretischen Voraussetzungen und die auf chemischem Wege erhaltenen Resultate bestätigt.

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. 23, 2, 1910.

Atoxyl.

IV. Mitteilung.

Von

Ferdinand Blumenthal.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(*Eingegangen am 6. August 1910.*)

Die guten Erfolge von E. Lesser, Miekley, Fabry und Lambkin u. a. mit dem von Uhlenhuth und mir in die Therapie eingeführten p-amidophenylarsinsauren Quecksilber bei menschlicher Syphilis, das, wie Uhlenhuth am syphilitischen Kaninchen zeigen konnte, schon durch eine einzige Injektion die Schaudinn-Hoffmannschen Syphilis-Spirochäten dauernd zum Verschwinden bringt, haben mich veranlaßt, einige weitere Kombinationsprodukte des Atoxyls[1]) zu unter-

[1]) Vielfach wird die Ansicht verbreitet, daß Atoxyl einem Zufall seine Einführung in die Medizin verdanke. Das ist unrichtig. Der Gedanke, die von Béchamp im Jahre 1863 dargestellte Arsenanilinverbindung medizinisch zu erproben, entsprang der Überlegung, daß die Derivate des Anilins eine ganz besondere pharmakologische Wirkung zeigen. Dieser Gedankengang führte im Laboratorium der Verein. chem. Werke zur Wiederdarstellung des Béchampschen Präparats. Als ich im Jahre 1901 durch zahlreiche Tierversuche die relative Ungiftigkeit dieses Körpers im Vergleich zu den therapeutisch bewährten anorganischen Arsenpräparaten festgestellt und gezeigt hatte, daß man mit ihm 20 bis 40 mal mehr Arsen dem Körper zuführen konnte als mit

suchen, die zum Teil auf meine Veranlassung in freundlichster und sorgfältigster Weise von Dr. Lüdecke im Laboratorium der Verein. chem. Werke hergestellt worden sind.

So sind bisher von mir folgende Jod- und Bromverbindungen untersucht worden:

1. p-jodphenylarsinsaures Natrium[1]),
2. p-jodphenylarsinsaures Quecksilber[1]) und Silber,
3. p-amidojodphenylarsinsaures Natrium[1]),
4. p-amidojodphenylarsinsaures Quecksilber[1]) und Silber,
5. p-amidodibromphenylarsinsaures Natrium.

Ferner habe ich untersucht und z. T. auch schon beschrieben[1])

das p-amidophenylarsinsaure Quecksilber (atoxylsaures Quecksilber) und

das p-amidophenylarsinsaure Silber (atoxylsaures Silber).

p-amidojodphenylarsinsaures Natrium:

$$NH_2 . C_6H_3(J) . As(=O)(-O.Na)(-O.Na) + 5^1/_2\ H_2O$$

Jodgehalt . . . . 26,1 %
Arsengehalt . . . 15,4 „

2.6-Dibrom-Atoxyl (p-amidodibromphenylarsinsaures Natrium):

$$NH_2 . C_6H_2(Br)_2 . As(=O)(-O.Na)(-O.Na) + 5\ H_2O$$

Bromgehalt . . . . 31,4 %
Arsengehalt . . . . 14,7 „

---

der Solutio fowleri, ferner, als ich bewiesen hatte, daß diese Verbindung im Tierkörper keine Anilinwirkung, sondern eine spezifische Arsenwirkung ausübt, wurde das Präparat, das nunmehr Atoxyl genannt wurde, von Lassar und seinem Assistenten Schild bei Hautkrankheiten geprüft und seine hervorragende Wirkung bei diesen festgestellt. Die Einführung des Atoxyls in die Medizin verdanken wir also nicht einem Zufall, sondern systematischer Laboratoriumsarbeit. Dann folgten (siehe Atoxyl, diese Zeitschr. 10, 240 und 16, 20) die Arbeiten von Fourneau, Moore, Nierenstein und Todd, die zeigten, daß die Béchampsche Formel (Metaarsensäureanilid) unrichtig war, bis Ehrlich und Bertheim 1907 die für weitere Forschungen wichtige Aufklärung der Konstitution des Atoxyls brachten.

[1]) Diese Zeitschr. 12 und 16.

Atoxylsaures Quecksilber (p-amidophenylarsinsaures Quecksilber):

$$NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot As\overset{O}{\underset{OH}{\lessgtr}}O - Hg - O\overset{O}{\underset{HO}{\lessgtr}}As \cdot C_6H_4 \cdot NH_2$$

Quecksilbergehalt . 31,7 %
Arsengeh. 23,7 „

Atoxylsaures Silber (p-amidophenylarsinsaures Silber):

$$NH_2 \cdot C_6H_4 \cdot \overset{O}{\underset{}{As}} \lessgtr^{OAg}_{OH}$$

Silbergehalt . . . . 33,3 %
Arsengehalt . . . . 23,1 „

Das atoxylsaure Quecksilber hat sich, wie oben erwähnt, bereits in der Syphilistherapie bewährt. Die anderen Quecksilber- und Jodverbindungen haben bisher bei dieser Krankheit beim Menschen noch keine ausgedehntere Verwendung gefunden. Von diesen scheinen die Jodverbindungen auf die malignen menschlichen Tumoren von zerstörendem Einfluß zu sein. Atoxylsaures Quecksilber hat Uhlenhuth mit sehr gutem Erfolge bei der Hühnerspirillose verwandt.[1]) Das atoxylsaure Quecksilber wurde bei der menschlichen Syphilis in einer Gesamtmenge von 0,5 bis 0,6 für die ganze Kur, d. h. 0,16 g Hg und 0,125 Arsen angewandt.

Bisher sind bei dieser 5 bis 6 Einspritzungen à 0,1 g gemacht worden. Nach meinen Erfahrungen wäre es besser, 2 bis 3 Einspritzungen à 0,25 g zu machen; letztere Dosis habe ich beim Menschen wiederholt als unschädlich erprobt.

Abgesehen von der Annehmlichkeit für den Patienten, daß anstatt 6 nur 3 Einspritzungen, jede Woche eine, nötig sind, wird damit auf einmal ein größeres Depot der wirksamen Substanz geschaffen, wodurch die spirillizide Wirkung von vornherein stärker wird und länger dauert. Was Sehstörungen anbelangt, so sind solche mit dem Jod- und Quecksilberatoxyl nicht beobachtet worden. Ich bediene mich 5 $^0/_0$ iger Aufschwemmungen, die bedeutend weniger schmerzhaft sind als die gebräuchlichen 10 $^0/_0$ igen.

a) Versuche mit Argentum atoxylicum (p-amidophenylarsinsaures Silber).

Ein Kaninchen von 3940 g erhält am 22. Januar 1910 $^1/_2$ 12 Uhr vormittags 0,1 g in Öl suspendiert subcutan. Am 24. Januar sind 850 ccm

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1.

Harn entleert, die keine α-Naphthol-Reaktion[1]) ergaben. An demselben Tage erhielt das Kaninchen 0,2 g in Öl verrieben. Am folgenden Tage, dem 25. Januar, sind 450 ccm Harn vorhanden: Die Naphtholreaktion ist positiv; am 26. Januar sind 510 ccm Harn vorhanden, die Naphtholreaktion ist negativ.

Kaninchen Nr. 2, 3650 g, erhält am 28. Januar 0,3 g in Öl verrieben um $^1/_2$12 Uhr vormittags, am 29. Januar war kein Harn entleert; vom 30. bis 31. Januar werden zusammen 600 ccm Harn gelassen, die Naphtholreaktion ist positiv. Am 1. Februar werden 500 g Harn gelassen, die Naphtholreaktion ist negativ.

Kaninchen Nr. 3, 2560 g, erhält am 5. Februar nachmittags 3 Uhr 0,5 g Argentum atoxylicum in Öl suspendiert subcutan. In den nächsten 24 Stunden werden 45 ccm Harn gelassen, die Freßlust ist verringert, die Naphtholreaktion ist positiv. Am 8. Februar wurden 20 ccm Harn gelassen, das Tier hat starke Krämpfe, der Eiweißgehalt des Harns ist groß, Blut und Zylinder sind vorhanden. Am 10. Februar erfolgt der Tod unter Anurie und klonischen Krämpfen. Bei der Sektion finden sich Blutungen im Darme, fettige und kalkige Infiltration der Niere. In der Leber werden Spuren von Silber nachgewiesen.

Aus diesen Resultaten geht hervor, daß das Argentum atoxylicum sehr viel ungiftiger (nur etwa $^1/_3$ so giftig) ist als das Hydrargyrum atoxylicum, obwohl sein Arsen- und Silbergehalt fast derselbe ist. Es enthält das Präparat 23,1 % Arsen und 33,3 % Silber, während das von mir untersuchte Quecksilberatoxyl 23,7 % Arsen und 31,7 % Quecksilber enthielt. Da beide in Wasser unlöslich sind, so dürfte die Löslichkeit allein für die Giftigkeit wohl nicht eine ausschlaggebende Rolle spielen, und es dürfte sich hier doch wohl um die geringere giftige Wirkung des Silbers dem Quecksilber gegenüber handeln.

b) Versuche mit Dibromatoxyl (p-amidodibromphenylarsinsaures Natrium).

Kaninchen von 2660 g, erhält 0,3 g Dibromatoxyl in Wasser gelöst subcutan am 2. Februar 1910, vormittags 10 Uhr. Es werden 45 ccm Harn gelassen, die eine starke Naphtholreaktion geben und Eiweiß enthalten; das Tier ist sichtlich krank. Am 4. Februar werden 30 ccm Harn entleert, die Naphtholreaktion ist ebenfalls positiv; der Harn enthält reichlich Eiweiß, Blut, Zylinder und Gallenfarbstoff. Am nächsten Tage ist das Tier tot. Bei der Sektion findet sich eine fettige Infiltration der Leber und hämorrhagische Nephritis.

Kaninchen Nr. 2, 2800 g, erhält 0,2 g in 10 ccm Wasser gelöst subcutan am 8. Februar. Am 9. Februar beträgt die Harnmenge 40 ccm, der Eiweißgehalt ist stark. Reichlich Epithelzylinder. Der Harn sieht ikterisch aus und enthält Gallenfarbstoffe. Vom folgenden Tage ab be-

[1]) Diese Reaktion habe ich mit Herschmann angegeben. Diese Zeitschr. 10, 240, 1908.

steht Anurie. Tod am 12. Februar. Sektion stark verfettete Leber, hämorrhagische Nephritis. Starker Gastroduodenalkatarrh.

Kaninchen Nr. 3, 2580 g, erhält am 8. Februar $^1/_2$11 Uhr vormittags 0,4 g Dibromatoxyl in Wasser gelöst; es besteht bis zum Tode am 14. Februar vollständige Anurie. Bei der Sektion wird die Leber stark verfettet gefunden, ferner hämorrhagische Nephritis; schwerer Gastroduodenalkatarrh.

Kaninchen Nr. 4, 2460 g, erhält am 21. Februar 0,2 g Dibromatoxyl subcutan. Am 22. Februar werden 20 ccm Harn entleert, derselbe enthält Spuren von Brom, von da ab besteht Anurie bis zum 25. Februar; an diesem Tage wird das Tier tot gefunden. Die Sektion ergibt starke Verfettung der Leber, starke Hämorrhagien in der Niere.

Obwohl das Dibromatoxyl nur 14% Arsen enthält, ist es doch, wie man sieht, von einer enormen Giftigkeit, die sicherlich herrührt von seinem Bromgehalt, was um so auffälliger ist, als doch sonst die organischen Brompräparate als relativ ungiftig angesehen werden.

c. Versuch mit p-amidojodphenylarsinsaurem Silber.

Kaninchen, 2630 g, erhält am 12. Februar 0,3 g der Verbindung in Öl subcutan. Am 14. Februar werden 30 ccm Harn entleert, der Eiweiß enthält und die Naphtholreaktion ergibt; freies Jod ist nicht vorhanden, dagegen gibt der Harn nach Veraschen die Jodprobe. Am 15. Februar werden 80 ccm Harn entleert, der nach Veraschen die Jodprobe deutlich gibt. Das Tier ist dauernd gesund.

Alle diese Präparate sind bereits beim Menschen therapeutisch verwandt worden. An dieser Stelle soll nur das Toxikologische Erwähnung finden. Unter 31 Fällen, die ich teils mit p-jodphenylarsinsaurem sowie p-amidojodphenylarsinsaurem Natrium behandelte, habe ich je einmal einen intensiven Ikterus bekommen, und zwar, als ich 2mal wöchentlich 0,2 g der Jodverbindungen injizierte. Der Ikterus bestand 8 bis 14 Tage und ging vollständig zurück. In beiden Fällen bestand gleichzeitig Oligurie, Albuminurie und Zylindrurie, die aber schnell wieder verschwanden. Natürlich enthielt der Urin reichlich Gallenfarbstoff.

Das Auftreten von Ikterus bei den Jodpräparaten ist nicht etwa bloß auf das Halogen zu beziehen. Ikterus ist als Zeichen der Intoxikation für die Arsenverbindungen der Atoxylgruppe sehr häufig, ich möchte sagen, er ist für die ganze Gruppe charakteristisch, und zwar scheint es ein richtiger Gastroduodenalkatarrh zu sein, der ihn herbeiführt; sicherlich liegt keine gelbe Leberatrophie vor, wie der Ausgang in Heilung beweist.

Ich habe bisher nur eine kleine Anzahl der möglichen Jod- und Bromverbindungen, gewissermaßen als Paradigma, untersucht. Man kann natürlich in alle Reduktions- und Substitutionsprodukte, sowie in die verschiedenen Salzverbindungen der Atoxylsäure Jod und Brom einführen oder die Amidogruppe

durch sie ersetzen und so zu vielen Brom- und Jodpräparaten der Atoxylgruppe gelangen. Sollten insbesondere die Jodpräparate für die Syphilis und für die Krebsbehandlung eine Bedeutung gewinnen, so wird es natürlich noch sehr vieler mühevoller Arbeit bedürfen, um das wirksamste und ungiftigste herauszusuchen. Der Weg dazu ist durch die schöne Entdeckung der Syphilisspirochäte durch Schaudinn und Hoffmann geebnet; diese Entdeckung hat es ermöglicht, bei der Syphilis das Tierexperiment zu therapeutischen Versuchen ebenso heranzuziehen wie bei anderen Infektionskrankheiten. Bei der Syphilis dürfen auch heute noch keineswegs die Jod- und Quecksilberverbindungen als überholt angesehen werden. Schon vor drei Jahren haben wir die überraschenden Erfolge bei dieser Krankheit und insbesondere bei ihrer malignen Form mit dem Atoxyl selbst gesehen. Bald aber folgten die Rezidive, und man kombinierte vielfach die Arsen- mit der Quecksilberkur. Auch meine Erfahrungen auf diesem Gebiete drängen mich, ebenso wie damals, auch heute dazu — ganz im Gegensatz zu der herrschenden Strömung — die Kombination der aromatischen Arsenkörper, wie sie in der Atoxylgruppe vorliegen, mit Quecksilber bzw. Jod für die Syphilisbehandlung zu betonen und infolgedessen diese Untersuchungen weiter zu verfolgen.

Über die Änderungen der durch Harnstoff in eiweißhaltigen Flüssigkeiten hervorgerufenen inneren Reibung und elektrischen Leitfähigkeit.

Von

G. Moruzzi.

(Aus dem histologischen und klinisch-chemischen Laboratorium der medizinischen Klinik der Universität zu Parma.)

(Eingegangen am 14. Juli 1910.)

Mit 3 Figuren im Text.

K. Spiro[1]) hat konstatiert, daß stark konzentrierte Harnstofflösung die Hitzekoagulation eiweißhaltiger Flüssigkeiten verhindert, dagegen die Gelatinierung derselben befördert.

In Anbetracht der Bedeutung, die der Harnstoff bei der Zusammensetzung der Flüssigkeiten des Organismus hat, und der Veränderungen, die seine Konzentration unter pathologischen Zuständen erfährt, schien es mir wichtig, von diesem doppelten Gesichtspunkt aus die physikalisch-chemischen Veränderungen eiweißhaltiger Flüssigkeiten zu prüfen.

In einem Vorversuche konnte ich feststellen, daß der Harnstoff zur Gelatinierung des Eiweißes Anlaß gibt, nicht nur bei einer Temperatur von 100° C, sondern auch bei einer niedrigeren als der Körpertemperatur.

In einem kleinen graduierten Kolben, der 6 ccm geschlagenes und filtriertes Eier-Eiweiß enthält und dessen Eiweißgehalt 83,12 °/₀₀ war, wurden 4 g, 3,8 g, 3,6 g, 3,4 g, 3,2 g, 0,5 g ganz reinen Merckschen Harnstoffes gelöst und die Flüssigkeit auf ein Volumen von 10 ccm gebracht. Beim Zusetzen der albuminösen harnstoffhaltigen Flüssigkeit zum Wasser bemerkt man eine bedeutende Kontraktion.

Bei einer 30 bis 40 °/₀igen Konzentration von Harnstoff erzielte ich in etwa 1 Stunde bei 25° C die Gelatinierung der Flüssigkeit.

[1]) K. Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 182, 1900.

Auch im dialysierten Eier-Eiweiß gibt der Harnstoff zu starken Konzentrierungen der Gelatinierung Anlaß; während aber beim Gebrauche natürlichen Eiweißes die abgeschiedene, über der Flamme erwärmte Gelatine fest bleibt, wird sie, falls man dialysiertes Eier-Eiweiß verwendet, wieder flüssig.

Spiro schließt in seiner Arbeit, daß der Harnstoff immer als eine schwache Base betrachtet werden müsse, der in wässerigen Lösungen die Hydratformel $CO\langle{}^{NH_3OH}_{NH_2}$ zukomme, die wegen ihres basischen Charakters das Eiweiß in Alkalialbuminat umwandele, das in der Wärme ungerinnbar ist.

Die Reaktion müßte nach dieser Hypothese so verlaufen:

$$R\langle{}^{NH_3OH}_{COOH} + CO\langle{}^{NH_3OH}_{NH_2} = R\langle{}^{NH_3OH}_{COO-NH_3-CO-NH_2} + H_2O.$$

Wenn man in der harnstoff-eiweiß-haltigen Flüssigkeit nach einigen Stunden die Reaktion mit Lackmuspapier prüft, so konstatiert man, daß sie rein alkalisch ist, während Neßlersche Flüssigkeit eine gelbliche Färbung erzeugt.

Um die Reaktion deutlich zu machen, muß man das die eiweiß- und harnstoffhaltige Flüssigkeit enthaltende Proberohr neigen und die Neßlersche Flüssigkeit langsam zugießen, so daß sich eine obere Schicht bildet. Nach 5 Minuten sieht man diese Schicht sich kanariengelb färben.

Im dialysierten Eiweiß ist die Reaktion nach dieser Zeit negativ.

Es erscheint wahrscheinlicher, daß die Reaktion zwischen Eiweiß und Harnstoff mit Entwicklung von Ammoniak verläuft. Das Ammoniak kann aus Harnstoff in bekannter Weise durch Hydrolyse entstehen oder infolge des Gleichgewichts, das, wie man annimmt, zwischen ihm und dem isomeren Ammoniumcyanat besteht [Fawsith].[1])

Der erste Prozeß, nimmt man ferner an, erfolgt nur in den schwachen Harnstoffkonzentrationen (bis zu 0,234 N nach

[1]) Ch. Edw. Fawsith, Zeitschr. f. phys. Chem. 41, 601, 1902.

Rudorf), weil in diesen Konzentrationen die innere Reibung negativ ist. Die innere negative Reibung ist nur in den Lösungen von Elektrolyten mit nicht starken Konzentrationen beobachtet worden; der Gärungsprozeß ist kaum annehmbar der Schnelligkeit wegen, mit der die Reaktion verläuft.

Das Eiweiß kann in seiner Funktion als Pseudobase das zwischen dem Harnstoff und dem Ammoniumcyanat bestehende Gleichgewicht verschieben, indem es die Stelle des Ammoniaks einnimmt und ein kolloides Eiweißcyanat bildet nach der Gleichung:

$$R\begin{cases} NH_3OH \\ COOH \end{cases} + CNONH_4 = R\begin{cases} NH_3-CNO \\ COOH \end{cases} + NH_3 + H_2O.$$

Wenn diese Reaktion einträte, könnte man die beständige Entwicklung von Ammoniak begreifen, weil das Eiweißcyanat als Kolloidverbindung das Gleichgewicht zwischen Ammoniumcyanat und Harnstoff ändern würde.

Die beständige Entwicklung einer dissoziierbaren Base wird durch die Änderungen des elektrischen Widerstandes, der durch die Zeit bedingt ist, bewiesen.

Tabelle I.

Mischung	Zeit	Widerstand bei 25° C	Bemerkungen
Dialysiertes Eier-Eiweiß 6 ccm + 4 g Harnstoff	nach 10 Min.	1487,95	—
	„ 60 „	1487,95	—
	„ 15 Std.	1433	die Reaktion ist alkalisch
	„ 23 „	1304,14	„ „ „ „

Ferner beabsichtigte ich, die Änderungen der inneren Reibung und der elektrischen Leitfähigkeit als Funktionen der zunehmenden Harnstoffmengen zu erforschen (Tabelle II).

Mit den Daten dieser Tabelle und mit denen des η der von Rudorf[1]) bestimmten wässerigen Harnstofflösungen wurde die graphische Darstellung I angefertigt, in der die Werte der Leitfähigkeit und der inneren Reibung der eiweißhaltigen Harnstoffmischungen und die innere Reibung der wässerigen Lösungen Funktionen der Harnstoffkonzentrationen sind.

[1]) G. Rudorf, Zeitschr. f. phys. Chem. 43, 243, 1903.

Tabelle II.

Eier-Eiweiß ccm	Harnstoff g	Normalität des Harnstoffs	Wasser	$K^{\times 10-5}_{25^0\,C}$	η 25° C	Sp. Gew. 25° C
4	10	10 n	Bis zu einem Totalvolum von 10 ccm	19,06	3,73	1,027
4	5,5	9,16 n		24,69	3,63	1,025
4	5	8,33 n		48,96	2,72	1,024
4	4	6,66 n		30,58	1,59	1,019
4	3,5	5,83 n		26,58	1,35	1,018
4	3	5 n		29,92	1,26	1,015
4	2,5	4,16 n		30,27	1,19	1,013
4	2	3,33 n		30,58	1,11	1,010
4	1,5	2,50 n		33,52	1,06	1,008
4	1	1,66 n		33,52	1,02	1,005
4	0,5	0,83 n		34,39	0,99	1,003
4	0	0 n		33,75	0,98	1,001

Graphische Darstellung I.

Kurve 1.

Bemerkungen: Das zu diesem Versuche gebrauchte Eiweiß war ungefähr einen Monat lang gegen destilliertes Wasser in Pergamenttuben dialysiert.

Nach der Dialyse wies es die folgenden physikalisch-chemischen Eigenschaften auf: Eiweiß 60°/$_{00}$; $K^{\times 10-5}_{25} = 65{,}60$; $\Delta = 0{,}025$.

Der Harnstoff wurde in wenigen Kubikzentimetern destillierten Wassers gelöst; dann wurde das Eiweiß hinzugefügt und endlich die Flüssigkeit mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 10 ccm gebracht; das Ganze wurde bei 25° C in einen Ostwaldschen Brutofen gestellt, und nach 30 Minuten wurden die Bestimmungen ausgeführt.

Die spezifische elektrische Leitfähigkeit wurde nach Kohlrauschs Methode, die Abflußzeit mit Ostwalds Viscosimeter und das spezifische Gewicht mit dem von Ostwald modifizierten Sprengelschen Pyknometer bestimmt.

Aus der Tabelle I geht hervor, daß die elektrische Leitfähigkeit von der Konzentration 0 bis zur Konzentration 6 n des Harnstoffes an langsam abnimmt, dann bis zur Konzentration 8,3 n schnell zunimmt, worauf sie rasch wieder abnimmt.

Die Abnahme des Leitvermögens bis zur Konzentration 6 n ist erklärbar, wenn man annimmt, daß das Vermögen des Harnstoffes, — in seiner Eigenschaft als Nichtelektrolyt die Bewegung der Ionen zu hemmen — die Oberhand behält über ihre durch die Bildung von Ammoniak bedingte numerische Zunahme.

Nach der Konzentration 6 n hingegen überwiegt der zweite Faktor, und so wurde die rasche Zunahme des Leitvermögens erzeugt.

Nach der Konzentration 8,3 n nehmen die Werte der elektrischen Leitfähigkeit ab, sei es weil die Ammoniakmenge abnimmt, sei es, weil die Zunahme so gering ist, daß die Hemmung, die der Harnstoff der Bewegung der Ionen bereitet, überwiegt oder aber auch, weil eine Entziehung der Ionen von seiten des Eiweißes stattfindet.

Bis jetzt ist es nicht möglich festzustellen, ob diese Faktoren zusammen oder getrennt dabei mitwirken.

Die η-Werte der eiweißhaltigen Harnstoffmischungen mit denen der wässerigen Harnstoffmischungen verglichen, fallen ungefähr bis zur Konzentration 2 n zusammen, nachher nehmen die η-Werte in den wässerigen Harnstofflösungen im Verhältnis zu den Harnstoffkonzentrationen zu, während die η-Werte der eiweißhaltigen Harnstoffmischungen zuerst langsamer zunehmen, dann aber sehr rasch steigen, ungefähr von dem Punkte an, wo die elektrischen Leitfähigkeitswerte zunehmen.

Es scheint begründet, die Veränderungen der Leitfähigkeit, die ein Anzeichen der sich entwickelnden NH_3-Menge sind, in Beziehung zu denen der inneren Reibung zu bringen, da, wie bekannt, die Alkalialbuminate wie die Säurealbuminate die Eigenschaft besitzen, unter bestimmten Bedingungen viscös bis zur Gelatinierung zu werden.

Vielleicht beschleunigen die zwischen den Harnstoffmolekülen und denen des Lösungsmittels (Wasser) stattfindenden Kombinationen die Gelatinierungserscheinung, denn eine Gelatinierungsbeschleunigung der Acidalbuminate entsteht auch durch den Einfluß des Alkohols und des nicht elektrolytischen Teiles der Essigsäure; die beide wie der Harnstoff sich mit dem Lösungsmittel (Wasser) verbinden. Beim Studieren der Beziehung zwischen der inneren Reibung und dem Δ der wässerigen Lösung der Nichtelektrolyten (Harnstoff, Alkohol, Zucker) und den schlechten Elektrolyten (Essigsäure) fand Rudorf[1]) weder die Formel der inneren Reibung $\eta = A^n$, noch die lineare Formel $\eta = 1 + a\,n$ anwendbar. Da, wie bekannt, die lineare Formel nur dort zutrifft, wo die molekulare Konstitution sich bei allen Konzentrationen gleich bleibt, weshalb die Viscosität sich als eine additive Eigenschaft erweist, so folgert er, daß in diesem Falle entweder Polymerisationen oder Kombinationen der gelösten Substanz mit dem Lösungsmittel entstehen müssen. Im ersteren Falle nimmt das vom Gefrierpunkt mittels der bekannten Formel $M = E\frac{n}{t}$ berechnete molekulare Gewicht mit dem Anwachsen der Konzentration zu, während es im anderen Fall abnimmt.

Die Abweichungen von der linearen Formel stehen im Verhältnis zu der Normalität oder zu dem Quadrat der Normalität, je nachdem sich Polymerisations- oder Kombinationserscheinungen der mit dem Lösungsmittel gelösten Substanz vollziehen.

Was den Harnstoff anbetrifft, so nimmt das Molekulargewicht anfangs zu, dann ab, wonach man annehmen muß, daß der Harnstoff sich zuerst polimerisiert, hierauf sich mit dem Lösungsmittel verbindet.

Ferner wurde auch der Einfluß der Salze auf die Erscheinung erforscht.

Tabelle III.

	Eiweiß ccm	$HgCl_2$ 0,0014 n ccm	Harnstoff g	Normalität des Harnstoffs	Wasser	$K_{25} \times 10^{-5}$	η a 25°	Sp. Gew. 25°
I	4	1,5	6	10 n	Bis zum Gesamtvolumen von 10 ccm	45,24	4,24	1,027
II	4	1,5	5,5	9,16 n		73,25	4,61	1,026
III	4	1,5	5	8,33 n		62,98	3,61	1,023
IV	4	1,5	4,5	7,50 n		42,96	2,69	1,021
V	4	1,5	4	6,66 n		39,63	1,85	1,019
VI	4	1,5	3,5	5,83 n		42,96	1,42	—
VII	4	1,5	3	5 n		43,36	1,29	1,015
VIII	4	1,5	2,5	4,16 n		—	1,19	1,022
IX	4	1,5	2	3,33 n		46,26	1,12	1,010
X	4	1,5	1,5	2,50 n		47,03	1,08	1,008
XI	4	1,5	1	1,66 n		47,81	1,03	1,005
XII	4	1,5	0	0 n		49,78	—	1,001

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 40, 257, 1903.

Es wurden wegen ihrer verschiedenen Wirkung auf die Fällung der eiweißhaltigen Flüssigkeiten Chlornatrium und Quecksilberchlorid gewählt.

In einer dieser Reihen von Experimenten mit wechselnden Mengen von Harnstoff wurden konstante NaCl- und $HgCl_2$-Mengen zugesetzt, die nicht äquimolekulär, aber isoelektrisch äquivalent waren.

Graphische Darstellung II.

Bemerkungen: Die Mischungen I, II, III, IV sind klar und sehr viscös, die V und VI sind leicht opalisierend und sehr viscös, die VII bleibt während der Bestimmung leicht opalisierend, nach 24 Stunden wird sie gelatinös, die VIII und IX gaben nach 24 Stunden ein wahres Präcipitat, desgleichen die X und XI, die während der Bestimmung nur opalisierend waren. In der XII hat sich sofort ein Niederschlag gebildet, der die Ausflußzeitbestimmung verhindert. Die Ausflußzeit des gebrauchten Viscosimeters war 66″.

Kurve 2.

Tabelle IV.

Eier-Eiweiß ccm	$HgCl_2$ 0,0033 n ccm	Harnstoff g	Normalität des Harnstoffs	Wasser	$K_{25} \times 10^{-5}$	η a 25°	PS a 25°
4	1,5	5	8,33 n	Bis zu einem Gesamtvolumen von 10 ccm	77,23	1,56	1,024
4	1,5	4,5	7,50 n		104,27	2,60	1,022
4	1,5	4	6,66 n		95,28	1,74	1,019
4	1,5	3,5	5,83 n		91,98	1,38	1,017
4	1,5	3	5 n		93,51	—	1,015
4	1,5	2,5	4,16 n		—	1,18	1,012
4	1,5	2	3,33 n		97,95	1,09	1,010
4	1,5	1,5	2,50 n		99,38	1,05	1,008
4	1,5	1	1,66 n		102,84	1,02	1,005
4	1,5	0	0 n		107,88	0,97	1,001

Graphische Darstellung III.

Kurve 3.

Bemerkung: Die Mischungen bleiben auch nach den Bestimmungen klar.

Mit den Daten der Tabelle III und IV wurden die Kurven II und III entworfen.

Aus denselben geht hervor, daß das Verhalten der inneren Reibung und der elektrischen Leitfähigkeit dem der salzfreien - eiweißhaltigen Harnstofflösungen gleich ist.

In der Tat nehmen die elektrischen Leitfähigkeitswerte anfangs mit der Zunahme der Harnstoffkonzentration ab; sie nehmen zu, wenn die Zunahme der inneren Reibung stärker wird, erreichen ein Maximum, das mit dem der inneren Reibung zusammenfällt, worauf sie in der Abnahme gleichen Schritt mit den Werten der inneren Reibung halten.

Es ist zu beachten, daß das Maximum der Viscosität in den Sublimat enthaltenden Lösungen höher ist als das in den einfach Harnstoff enthaltenden, während das der Chlornatrium enthaltenden Lösungen sich niedriger stellt.

Vom biologischen Gesichtspunkt aus ist der bedeutende Einfluß von Interesse, den das Vorhandensein und die Qualität der in der eiweißhaltigen Harnstoffflüssigkeit enthaltenen Elektrolyten auf das Verhalten des η ausübte.

Schließlich habe ich untersuchen wollen, ob es möglich ist, mit dem Harnstoff die Gelatinierung einiger Flüssigkeiten des Organismus zu erzielen. Die beobachteten Tatsachen sind in der folgenden Tabelle V zusammengestellt.

Von diesen drei Versuchsflüssigkeiten besitzt nur das Serum die Eigenschaft, durch Einwirkung des Harnstoffes zu gelatinieren.

Obwohl der Harnstoff in pathologischen Zuständen, in denen er sich in größerer Menge im Organismus ansammelt, wie z. B. in der Urämie, 8 bis 14$^0/_{00}$ übersteigt, also Kon-

zentrationen, welche die von uns in der vorliegenden Arbeit studierten Erscheinungen nicht auszulösen vermögen, so ist es doch nicht ausgeschlossen, daß in anderen Teilen des Organismus die Konzentration des Harnstoffes eine derartige ist, daß sie solche erzeugen kann.

Tabelle V.

	Harnstoff g	Serum v. Pferd ccm	Bemerkungen
I	0,1	5	Nach 48 Std. hat sich Gelatinierung in der Mischung V gebildet. In dem ersten Fall hat sich ein am Boden der Proberöhre in Flöckchen angesammeltes Präcipitat gebildet, alle anderen sind klar. Das Blutserum bot die folgenden chemisch-physikalischen Konstanten: Eiweiß 70 ‰. Spezifisches Gewicht = 1045. Δ = 0,557. $K_{25} \times 10^{-5} = 1221,89$.
II	0,5	5	
III	1	5	
IV	2	5	
V	4		

	Harnstoff g	Mit dest. Wasser lackfarbig gemacht, rote Blutkörperchen vom Pferde ccm	Bemerkungen
I	0,1	5	Die erste und letzte Mischung sind schwarz geworden, die anderen blieben klar, keine Gelatinierung. Die lackfarbigen, roten Blutkörperchen boten die folgenden physikalisch-chemischen Konstanten: Eiweiß 75 ‰. Spezifisches Gewicht 1049. Δ = 0,190. $K_{25} \times 10^{-5} = 321,06$.
II	0,5	5	
III	1	5	
IV	2	5	
V	4	5	

	Harnstoff g	Pleuraexsudat ccm	Bemerkungen
I	0,1	5	Nach 24 Stunden hat sich ein am Boden der Proberöhre in Flöckchen angesammeltes Präcipitat in der ersten Mischung gebildet, die anderen blieben unverändert. Das Pleuraexsudat bot die folgenden chemisch-physikalischen Konstanten: Eiweiß 49 ‰. Spezifisches Gewicht = 1021. Δ = 0540. $K_{25} \times 10^{-5} = 1309,32$.
II	0,5	5	
III	1	5	
IV	2	5	
V	4		

Nach unserer Ansicht verdankt der Harnstoff die ihm eigene hämolytische und komplementeablenkende Wirkung seiner Eigenschaft, in eiweißhaltigen Flüssigkeiten Ammoniak zu entwickeln.

Eine neue Methode zur Darstellung von Blutfarbstoffkrystallen.

Von

J. Offringa.

(Aus dem physiologischen Institut der Reichs-Universität Groningen.)

(Eingegangen am 20. Juli 1910.)

Die Veranlassung zur Ausarbeitung vorliegender Methode bildet eine Untersuchung, über die später berichtet werden wird. Dieselbe beschäftigt sich mit der chemischen und physikalisch-chemischen Zusammensetzung des flüssigen Inhalts der roten Blutkörperchen. Dieser wurde nach dem Gedanken des Herrn Prof. Hamburger ohne fremde Beimischungen durch Auspressen des Blutkörperchenbreies mit Infusorienerde erhalten.

Jedes Verfahren zur Reindarstellung des Hämoglobins beginnt mit dem Freimachen dieses Farbstoffes aus den roten Blutkörperchen.

Die verschiedenen Autoren bewirken dies z. B. durch Fäulnis, durch Behandlung der Blutkörperchen mit Wasser, Äther, Benzol, Chloroform usw., durch Einwirkung elektrischer Entladungsschläge auf das Blut, durch Erwärmen des Blutes auf 60°, durch Gefrieren und wieder Auftauen des Blutes und durch mehrere andere Methoden.

Bereits 1891 hat Schuurmans-Stekhoven[1]) auf den Übelstand hingewiesen, daß bei allen üblichen Methoden Stoffe verwendet werden, die einen schädigenden Einfluß auf das so labile Molekül des Hämoglobins ausüben können. Wir glauben mit diesem Autor, daß es wünschenswert wäre, eine Methode zu haben, die keine derartigen Stoffe braucht, wie z. B. Äther, Ammoniak, Benzol, Chloroform usw., die, wenn nicht in kurzer

[1]) Onderzoekingen Physiol. Laboratorium Utrecht. 4e Reeks, S. 67 oder Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 296 bis 297.

Zeit, dann doch wohl nach längerer Einwirkung ihren Einfluß geltend machen, wie dies bei den meisten Methoden der Fall ist.

Schuurmans-Stekhoven hat in seiner oben genannten Arbeit eine neue Methode angegeben, die zum Teil den genannten Fehler ausschaltet. Die mit 1%iger Kochsalzlösung ausgewaschenen Blutkörperchen werden mit Asbestflocken geschüttelt. Es wird also ein mechanisches Verfahren zum Freimachen des Blutfarbstoffes angewendet, wobei letzterer in der Salzlösung sich löst und die Stromata größerenteils an den Asbestflocken kleben bleiben und so entfernt werden können. So kommt das Hämoglobin gar nicht mit Äther oder dergleichen Stoffen in Berührung, und man erhält eine ziemlich konzentrierte Farbstofflösung.

Zur Gewinnung von Hämoglobinkrystallen aus dieser Lösung gibt die Methode von Schuurmans-Stekhoven ein Dialysationsverfahren an. Die Lösung wird gegen Alkohol von 45% im Eisschranke dialysiert. Der Alkohol entzieht Wasser, und nach einiger Zeit beginnen die Krystalle, sich an der Dialysatorwand abzusetzen. Die zum Umkrystallisieren wieder gelösten Krystalle werden wieder durch Dialyse erhalten.

Wie gesagt, bietet diese Methode offenbar Vorteile: ein solches mechanisches Verfahren zum Freimachen des Farbstoffes finden wir selbst nicht bei der Methode, die im Hüfnerschen Institut befolgt wird.[1])

Leider war Schuurmans-Stekhoven nicht imstande, seine so erhaltenen Krystalle auf ihre Reinheit zu prüfen. Auch haben wir in der Literatur keine Arbeit gefunden, in der seine Methode weiter verfolgt worden ist. Nach unserer Erfahrung ist sie sehr bequem, aber hat doch immer noch den Nachteil, daß bei der Dialyse Alkohol benutzt wird. Wir glauben, daß auch dieser verdünnte Alkohol nicht ohne Schaden für das Hämoglobinmolekül ist. Überdies erfordert auch diese Methode eine lange Zeit für den Eintritt der Krystallisation.

Wir haben nun versucht, eine schnelle und bequeme Methode zur Darstellung der Blutfarbstoffkrystalle auszuarbeiten, die die genannten Übelstände vermeidet.

---

[1]) Diese Methode ist genau beschrieben in: Tigerstedt, Handbuch der physiologischen Methodik 2, Abt. 1, 93ff.

Es gibt zwei Punkte, denen unseres Erachtens eine große Bedeutung bei diesem Verfahren zukommt:

1. Die Darstellung einer möglichst konzentrierten Blutfarbstofflösung.

2. Das Absetzen der Krystalle aus dieser Lösung.

1. Die Darstellung einer konzentrierten Blutfarbstofflösung.

Wie Schuurmans-Stekhoven befolgen wir ein mechanisches Verfahren zum Freimachen des Farbstoffes aus den roten Blutkörperchen, aber ein anderes.

Defibriniertes Blut wird auf der Zentrifuge mittels isotonischer Rohrzuckerlösung ausgewaschen, damit die Serumbestandteile völlig entfernt werden. Meistens sind nach 3 oder 4facher Wiederholung dieses Prozesses die Blutkörperchen von Serum befreit.

Die Blutkörperchen werden jetzt noch einmal mit Rohrzuckerlösung gemischt und diese Blutkörperchensuspension in Zentrifugeröhrchen von etwa 7 bis 8 mm Durchmesser gebracht. In diesen Röhrchen wird die Blutsuspension wieder zentrifugiert. Die Anwendung der schmalen Röhrchen hat den Zweck, die Blutkörperchenmasse möglichst vollständig zusammen zu pressen, damit Blutkörperchen und Rohrzuckerlösung möglichst vollständig voneinander getrennt werden. Hat man genügend lange Zeit zentrifugiert, so saugt man die Rohrzuckerlösung ab. Am bequemsten macht man dies mit kleinen Capillarpipetten. Alsdann werden die Blutkörperchen, wieder am besten durch Aufsaugen in Pipetten, in eine Porzellanschale von passender Größe übergeführt.

Dieser Blutkörperchenbrei wird jetzt mit Infusorienerde gemischt, bis eine teigförmige Masse erhalten wird, die durch weiteres Einhüllen in Watte für das Auspressen mit einer hydraulischen Presse vorbereitet wird. Für die genauere Anwendung dieser Preßmethode verweisen wir auf unsere neuerdings über diesen Gegenstand publizierte Arbeit.[1])

Mit dieser Preßmethode wird ein dunkelschwarz gefärbter Preßsaft der roten Blutkörperchen erhalten, der dem durch Gefrieren und wieder Auftauen lackfarben gemachten Blut völlig ähnlich sieht.

---

[1]) Diese Zeitschr. 28, 112, 1910.

In dieser Weise läßt sich eine Blutfarbstofflösung möglichst starker Konzentration darstellen. Eventuell vorhandene Beimischungen, z. B. kleine Quantitäten Infusorienerde und vereinzelte Stromata von Blutkörperchen, die beim Auspressen immer mit hindurchgehen, sind durch Zentrifugieren des Preßsaftes leicht zu entfernen.

2. Das Absetzen der Blutfarbstoffkrystalle.

Dieses ist allein abhängig von der Löslichkeit der vorliegenden Hämoglobinart. Unsere Erfahrungen erstrecken sich nur auf Pferde- und Schweinehämoglobin.

a) Krystalle des Pferdehämoglobins.

Die auf oben genannte Weise erhaltene Blutfarbstofflösung wird in einem Zentrifugerohr in ein Kältegemisch von etwa —20° C gestellt, bis sie ganz gefroren ist. Alsdann wird die gefrorene Lösung in die Zentrifuge gebracht und jetzt zentrifugiert, bis sie wieder aufgetaut ist. Der schweren Löslichkeit des Pferdehämoglobins wegen erhält man auf diese Weise eine ziemlich große Quantität abgesetzter Krystalle. Man saugt die oben stehende Mutterlauge möglichst vollständig ab und schreitet durch Auflösen in wenig destilliertem Wasser in derselben Weise zur zweiten Krystallisation.

Die weiteren Manipulationen zum Trocknen der Krystalle lassen sich bequem nach der Hüfnerschen Methode ausführen.[1])

Wir haben also Hämoglobinkrystalle dargestellt ohne Anwendung etwaiger Reagenzien, die das labile Molekül vielleicht angreifen könnten.

Schon bei einer mikroskopischen Betrachtung erweisen sich die so erhaltenen Krystalle, die noch nicht weiter umkrystallisiert sind, als völlig homogen, d. h. wir sehen nur eine Sorte von Krystallen: rhombische Nadeln ohne weitere Beimischungen.

Die Reinheit des erhaltenen Präparates haben wir geprüft durch das beste Kriterium: die Methode der spektrophotometrischen Untersuchung.

Man bestimmt den Extinktionskoeffizienten einer Lösung der erhaltenen Krystalle in zwei Regionen des Spektrums, speziell im Wellenlängengebiete 534 bis 542 $\mu\mu$ und 556,5 bis 564,5 $\mu\mu$. Der Quotient dieser beiden Bestimmungen soll einen

[1]) Tigerstedt, Handbuch d. physiol. Methodik, l. c.

konstanten Wert ergeben, der nach Hüfner für reines HbO_2 1,578 beträgt.

Wir benutzten zu diesem Zweck ein Hüfnersches Spektrophotometer in der Form, wie dasselbe von Hilger in London geliefert wird.

Die Bestimmungen sind nach längerer Übungszeit gemacht worden. Wir verfahren in folgender Weise:

Von den erhaltenen Krystallen wird eine etwa 0,25°/₀ige Lösung mit reiner 0,1°/₀iger Na_2CO_3-Lösung angefertigt. Wir erhielten für diese Lösung folgende Werte:

Im Wellenlängengebiete 534 bis 542 $\mu\mu$		Im Wellenlängengebiete 556,5 bis 564,5 $\mu\mu$	
Einstellung		Einstellung	
im linken Quadrant	im rechten Quadrant	im linken Quadrant	im rechten Quadrant
72° 8′	71° 45′	60° 58′	61° 41′
71° 46′	71° 6′	60° 53′	61° 27′
71° 43′	71° 48′	60° 58′	61° 15′
71° 46′	71° 33′	60° 51′	61° 40′
72° 1′	71° 34′	60° 50′	61° 24′
359° 24′ +	357° 46′	304° 30′ +	307° 27′
= 717° 10′		= 611° 57′	
Mittelwert aus 10 Bestimmungen: 71° 43′		Mittelwert aus 10 Bestimmungen: 61° 12′	

Daraus berechnet sich im ersten Falle der Extinktionskoeffizient

$$\varepsilon_0' = -\log\cos^2 71^\circ 43' = 1{,}0070,$$

im zweiten Falle

$$\varepsilon_0 = -\log\cos^2 61^\circ 12' = 0{,}6344$$

und daher der Quotient

$$\frac{\varepsilon_0'}{\varepsilon_0} = \frac{1{,}0070}{0{,}6344} = 1{,}59,$$

ein Wert, der dem durch sehr viele Bestimmungen ermittelten Werte von 1,578 sehr nahe kommt.

Es liegt also reines HbO_2 vor.

b) Krystalle des Schweinehämoglobins.

Die mittels der Preßsaftmethode erhaltene Lösung des Schweinehämoglobins ist für eine direkte Krystallisation nicht genügend konzentriert. Doch bedarf es nur eines einfachen Verfahrens für das Zustandekommen der Krystallisation. Die Hämoglobinlösung läßt sich nämlich leicht eindunsten; dies kann entweder im Vakuum geschehen oder aber auf mechanische Weise, z. B. mittels eines über die Flüssigkeitsoberfläche geblasenen Luft- oder Gasstroms. Wir befolgten letztere Me-

thode durch Anwendung eines ähnlichen Apparates, wie E. Faust[1]) angegeben hat; nur wird die Luft nicht geheizt. Das Eindunsten wird fortgesetzt, bis die Hämoglobinlösung die Konsistenz eines dicken Sirups erhalten hat. Aus dieser Lösung setzen sich nach einigen Stunden ohne Hilfe des Gefrierprozesses bei Zimmertemperatur eine große Menge reiner Hämoglobinkrystalle ab.

Die weitere Umkrystallisation der erhaltenen Krystalle geschieht bequem in oben angegebener Weise. Die Reinheit des erhaltenen Präparates haben wir wieder wie bei den Pferdehämoglobinkrystallen geprüft.

Folgende spektrophotometrischen Werte haben wir erhalten:

Im Wellenlängengebiete 534 bis 542 $\mu\mu$ Einstellung		Im Wellenlängengebiete 556,5 bis 564,5 $\mu\mu$ Einstellung	
im linken Quadrant	im rechten Quadrant	im linken Quadrant	im rechten Quadrant
77° 36′	77° 16′	67° 28′	67° 33′
77° 27′	77° 2′	67° 35′	67° 15′
77° 39′	76° 58′	67° 6′	66° 55′
77° 22′	77° 3′	67° 4′	67° 6′
77° 37′	77° 8′	67° 25′	67° 6′
387° 41′ + 385° 26′ = 773° 7′		336° 38′ + 335° 55′ = 672° 33′	
Mittelwert aus 10 Bestimmungen: 77° 19′		Mittelwert aus 10 Bestimmungen: 67° 15′	

Daraus berechnet sich im ersten Falle der Extinktionskoeffizient

$$\varepsilon_0' = -\log \cos^2 77^0\,19' = 1{,}3168,$$

im zweiten Falle

$$\varepsilon_0 = -\log \cos^2 67^0\,15' = 0{,}8252$$

und daher der Quotient

$$\frac{\varepsilon_0'}{\varepsilon_0} = \frac{1{,}3168}{0{,}8252} = 1{,}59$$

ein Wert, der der Hüfnerschen Zahl 1,578 wieder sehr nahe kommt.

Es liegt also wieder reines HbO_2 vor.

Schließlich bemerken wir noch, daß vielleicht die Pferdehämoglobinkrystalle auch auf dieselbe Weise wie die Krystalle des Schweinehämoglobins erhalten werden können. Nur glauben wir, daß oben genannter Gefrierprozeß schneller zum Ziele führt. Auf diese Weise erhielten wir manchmal in etwa 8 Stunden die ersten Krystallisationen.

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 51, 248, 1904.

Bemerkungen über die Bereitung von Organpreßsäften mittels Infusorienerde.

Von

J. Offringa.

(Aus dem physiologischen Institut der Reichs-Universität Groningen.)

(Eingegangen am 14. Juli 1910.)

Seit der Darstellung der Zymase aus Hefezellen nach dem Vorbilde von Buchner-Hahn[1]) hat die Methode der Preßsäfte vielfache Anwendung gefunden.

Sie ist in der Tat auch eine Methode, die große Vorteile bietet über die anderen Methoden, die zur Darstellung von Organsäften gebraucht werden. Man erhält auf diesem Wege den flüssigen Anteil der Organe, ohne daß man etwaiger Lösungs- oder Verdünnungsmittel bedarf, die vielleicht die Zusammensetzung der Organsäfte beeinflussen könnten. Sie ist weiter imstande, einen sehr konzentrierten Organsaft zu liefern, der nahezu zellfrei oder mittels der Zentrifuge bequem zellfrei zu machen ist.

Jedoch haben schon Buchner-Hahn[2]) die Erfahrung gemacht, daß diese Methode keine quantitativen Resultate liefert. Der Zusatz von Infusorienerde ist vielleicht die Ursache, daß Eiweiß und Fermente, ja sogar Salze zurückgehalten werden. Es ist dies eine große Beschwerde der im übrigen so bequemen Methode.

Wir haben uns damit beschäftigt diesen Übelstand, der sich vor allem bei der Untersuchung des Elektrolytengehaltes von Organsäften geltend macht, etwas zu mildern, womöglich zu beseitigen.

---

[1]) Buchner-Hahn, Die Zymasegärung, 1903.

[2]) l. c., S. 65.

Die Fehler, die durch diese Preßsaftmethode verursacht werden, haben ihren Ursprung erstens in den Preßtüchern, zweitens auch in der Infusorienerde selbst. Sowohl Preßtuch als Infusorienerde dürfen die Zusammensetzung der Preßsäfte nicht beeinflussen. Wie dies erzielt werden kann, werden wir im Folgenden mitteilen.

1. Das Preßtuch.

Das klassische Verfahren von Buchner-Hahn empfiehlt, zum Zwecke des Auspressens, die mittels Infusorienerde teigförmig gemachte Masse in ein „starkes, baumwollenes, nicht appretiertes Preßtuch einzuschlagen“, und dafür wird eine Sorte Segeltuch, das zur Überdeckung von Zelten Anwendung findet, als das beste empfohlen.

Wir haben uns sehr viele Mühe gegeben, dieses Preßtuch so zu bearbeiten, daß es einwandfrei angewendet werden könnte. Aber weder durch wiederholtes Aufkochen mit destilliertem Wasser noch durch Anwendung eines Wasserdampfstrahles auf das Tuch ist es uns gelungen, dasselbe von den darin enthaltenen Salzen vollkommen zu befreien. Außerdem ist es ein sehr langweiliger und kostspieliger Prozeß wegen der großen Mengen des dazu erforderlichen destillierten Wassers.

Und auch wenn man auf diese Weise reines Preßtuch erhalten könnte, hat dieses Preßtuch doch noch immer den Nachteil, daß es leicht zerreißt und so den Preßkuchen aus der Presse treten läßt.

Wir haben nun in Watte eine Form von Einhüllungsmittel für den Preßkuchen gefunden, die große Vorteile bietet. Nicht nur leistet die Watte bei zweckmäßiger Anwendung dem größten Druck Widerstand, da sie sich leicht an die Form der gebräuchlichen Preßapparate anpaßt, sondern sie ist ein Preßtuch, das sich leicht reinigen läßt. Die Anwendung ist folgende:

Wenn man ein Paket von Brunsscher Watten entrollt und die Hälfte der Dicke von dieser Schicht nimmt, so erhält man ein Preßtuch, das, 2 oder 3 mal um den Preßkuchen gewickelt, genügend Widerstand bietet.

Wie gesagt, verwenden wir hierzu die bekannte „von Brunssche entfettete Watte“. Diese Watte sieht schön

weiß aus und enthält nur Spuren von Säuren. Durch einfaches Auswaschen mit destilliertem Wasser und nachheriges Trocknen wird sie in eine Form gebracht, die nicht im mindesten die Zusammensetzung des Preßsaftes beeinflußt, wie man aus folgenden Proben sehen kann.

Kontrollversuch.

Blutserum wird in getrockneter, gereinigter Watte aufgesogen und nachher wieder ausgepreßt. Die ausgepreßte Flüssigkeit wird mit dem ursprünglichen Serum verglichen, sowohl hinsichtlich der Gefrierpunktserniedrigung als der Leitfähigkeit, die nach den üblichen Methoden, wie sie in Hamburgers „Osmotischer Druck und Ionenlehre“ beschrieben sind, bestimmt werden.

	Δ Mittelwert aus 3 Bestimmungen	λ bei 16,2°
Ursprüngliches Serum	0,593°	1047×10^{-5}
Serum in Watte aufgesogen und wieder ausgepreßt	0,604°	1045×10^{-5}

Die Watte hat also die Zusammensetzung des Serums nicht geändert.

2. Die Infusorienerde.

Wie es scheint, hat die Infusorienerde einen doppelten Zweck. Erstens braucht man sie für das Erhalten einer teigförmigen Masse. Dieselbe soll, um ein richtiges und schnelles Auspressen zu erreichen, eine bestimmte Konsistenz haben. Ist die Masse zu weich, so läßt das Preßtuch (auch die Watte) dieselbe durchgehen, und außerdem erhält man am Ende weniger Preßsaft.

Zweitens hat die Infusorienerde, die bekanntlich aus Kieselskeletten von Diatomeen besteht, die Aufgabe, die in dem Organzellenbrei enthaltenen Zellen zwischen sich zu fassen und durch ihre scharfen Spitzen zu lädieren. In dieser Weise wird der Zellinhalt frei und läßt sich auspressen.

Wie oben gesagt, haben Buchner-Hahn beim Auspressen der Hefezellen schon die Erfahrung gemacht, daß die Zymase nicht vollständig ausgepreßt wird. Bei nachheriger Behandlung des Preßkuchens erhielten sie noch eine Zymaselösung mit großer Gärkraft.

Man hat daraus den Schluß gezogen: die Infusorienerde sei keine geeignete Substanz, wo es sich um das Auspressen der Organsäfte handelt. Es liegt aber auf der Hand, daß man

das Auspressen nicht so weit treiben kann, daß der Organsaft vollständig aus dem Brei entfernt wird.

Andrerseits aber kann man die Frage erheben, inwieweit die ausgepreßte Flüssigkeit der in den Zellen vorhandenen entspricht. In dieser Richtung haben wir einige Versuche mit Hinsicht auf die Elektrolyten angestellt.

Wenn man z. B. Serum und vorher nicht gereinigte Infusorienerde mischt und das Serum wieder auspreßt, so findet man eine Änderung in dem Salzgehalt bei der Bestimmung des Gefrierpunktes und der Leitfähigkeit. Nun enthält die Infusorienerde, auch die feinste Sorte derselben, die unter dem Namen „Superfin Weiß" im Handel vorkommt, u. a. große Quantitäten Calcium- und Eisensalze, die z. T. als in Wasser lösliche, z. T. nur in Säuren lösliche Salze vorhanden sind. Diese Salze muß man entfernen. Wir machen dieses auf folgende Weise:

Etwa 100 g Infusorienerde (Superfin Weiß) werden in einer geräumigen Porzellanschale mit 1 l eines Säuregemisches (2 T. HCl, 1 T. HNO_3 und 7 T. Wasser) gemischt. Man mischt so lange, bis der Brei eine gleichmäßige Masse geworden ist und kocht diesen Brei dann etwa $^1/_4$ Stunde. Nach diesem Kochen läßt man ihn stehen, bis die Infusorienerde sich etwas abgesetzt hat, und jetzt wird durch Dekantieren der größere Teil des Säuregemisches entfernt.

Der Infusorienerdebrei wird dann in große Porzellanschalen gebracht und in diesen mit möglichst großen Quantitäten Leitungswasser vermischt. Jetzt läßt man wieder absetzen. Nach einiger Zeit kann man von neuem dekantieren und fügt wieder Leitungswasser zu. Dieses Verfahren wird so lange wiederholt, bis das Gemisch blaues Lackmuspapier nicht mehr rötet.

Schneller kommt man zum Ziel, wenn man das Gemisch von Infusorienerde und Wasser auf Filtertrichter mit großer Oberfläche bringt, wie sie z. B. in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Teil 1, S. 104 angegeben worden sind. Das Einlegen gewöhnlichen Filtrierpapiers in den Filtertrichter genügt.

Man saugt dann mit der Wasserstrahlpumpe das Wasser weg und erhält auf dem Filter einen Kuchen von Infusorien-

erde, der wohl noch feucht ist, aber keine großen Quantitäten Wasser mehr enthält. Den Kuchen zerteilt man wieder in Wasser und wiederholt diese Bearbeitung, bis das Waschwasser nicht mehr sauer reagiert. Dann zerteilt man den nach Absaugen des Wassers erhaltenen Kuchen von Infusorienerde einige Male in destilliertem Wasser, um die letzten Quantitäten des Leitungswassers zu entfernen.

Schließlich bringt man den Kuchen, den man in Stücke gebrochen hat, auf Platten im Trockenschrank bei 100 bis 110° und trocknet ihn einige Tage, bis alles Wasser verschwunden ist. Das so erhaltene Präparat ist jetzt fertig und brauchbar für das Auspressen des Organzellenbreies. Daß es sich gegenüber dem Organsaft neutral verhält, wenigstens was den Elektrolytengehalt desselben anbelangt, dürfen folgende Versuche zeigen.

Kontrollversuch.

Rinderserum wird gemischt mit gereinigter Infusorienerde; die teigförmige Masse in gereinigte Watte eingehüllt und ausgepreßt. Der Preßsaft wird, wie oben angegeben worden ist, wieder verglichen mit dem ursprünglichen Serum.

	Δ Mittelwert aus 3 Bestimmungen	λ bei 16,2°
Ursprüngliches Serum	0,593°	1047×10^{-5}
Ausgepreßtes Serum	0,596°	1054×10^{-5}

Weder die gereinigte Infusorienerde noch die gereinigte Watte haben also die Zusammensetzung des Serums geändert.

Es läßt sich somit erwarten, daß bei Berücksichtigung der beschriebenen Reinigung, Watte und Infusorienerde ein vorzügliches Material zur Erhaltung einer reinen Organflüssigkeit bilden. Mittels dieses Verfahrens haben wir auch den flüssigen Inhalt der roten Blutkörperchen bereitet. Näheres hierüber in einem anderen Aufsatz.

Was die Handhabung der hydraulischen Presse betrifft, empfehlen wir noch, den Druck nur sehr langsam zu steigern, z. B. jedesmal nicht mehr als 10 Atmosphären. In dieser Weise beugt man einem Auseinanderweichen des Preßtuches bzw. der Watte vor und bekommt auch eine größere Quantität Preßsaft.

Über das Verhalten der p-Oxyphenyl-α-milchsäure und der p-Oxyphenylbrenztraubensäure in der überlebenden Leber.

Von

Ernst Schmitz.

(Aus dem städtischen chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 24. Juli 1910.)

Durch die Untersuchungen von O. Neubauer und Falta[1]) ist der Nachweis erbracht worden, daß diejenigen aromatischen Substanzen, deren Ring im gesunden Organismus leicht verbrennlich ist, beim Alkaptonuriker in Homogentisinsäure übergehen, während jene Substanzen, deren aromatischer Kern nicht (oder richtiger vielleicht schwer) der Aufspaltung im Tierkörper zugänglich ist, ohne Einfluß auf die Homogentisinsäureausscheidung durch den Alkaptonuriker bleiben.

Die genannten Autoren gelangten auf Grund ihrer Versuche zu der Anschauung, daß die Homogentisinsäure ein normales, intermediäres Stoffwechselprodukt ist, und daß das Wesen der bei der Alkaptonurie bestehenden Stoffwechselstörung darin liegt, daß dieses normale intermediäre Produkt nicht oder nur unvollständig unter Aufspaltung des aromatischen Kernes weiter verarbeitet werden kann.

Diese Anschauung konnte durch Versuche, die Embden, Salomon und Schmidt[2]) an der künstlich durchbluteten Leber vornahmen, ganz wesentlich gestützt werden.

In diesen Versuchen konnte nämlich gezeigt werden, daß diejenigen Substanzen, die im gesunden Organismus leicht völlig

---

[1]) O. Neubauer und W. Falta, Über das Schicksal einiger aromatischer Säuren bei der Alkaptonurie. Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 96, 1904.

[2]) Embden, Salomon und Schmidt, Über Acetonbildung in der Leber II. Mitteilung. Quellen des Acetons. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 129, 1906.

verbrannt werden und die nach den Untersuchungen von Neubauer und Falta bei der Alkaptonurie in Homogentisinsäure übergehen, in der isolierten Leber unter Aufspaltung des aromatischen Kernes Aceton (richtiger Acetessigsäure) bilden, während dies bei den für den Organismus im aromatischen Kern nicht angreifbaren, beim Alkaptonuriker nicht in Homogentisinsäure übergehenden Substanzen nicht der Fall war.

Auch die Homogentisinsäure selbst, die vom Gesunden leicht verbrannt wird, lieferte bei der Durchblutung der Leber Acetessigsäure.

Nach dem eben Gesagten gehen also Verbrennlichkeit im Organismus des Normalen, Umwandlung in Homogentisinsäure beim Alkaptonuriker und Aufspaltung des aromatischen Kernes unter Bildung von Acetessigsäure in der isolierten Leber miteinander parallel.

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit[1]) hat nun O. Neubauer eine Reihe von Tatsachen festgestellt, die für ihn den Ausgangspunkt bestimmter Vorstellungen über die näheren Vorgänge beim normalen Abbau aromatischer und auch aliphatischer Aminosäuren bilden.

Es soll an dieser Stelle nur auf zwei seiner Versuchsergebnisse eingegangen werden.

Neubauer konnte zeigen, daß die p-Oxyphenyl-α-milchsäure im Gegensatz zur Phenyl-α-milchsäure und im Gegensatz auch zur p-Oxyphenylbrenztraubensäure bei der Alkaptonurie ohne merklichen Einfluß auf den Umfang der Homogentisinsäureausscheidung bleibt.

Es schien nicht ohne Interesse, die Frage zu prüfen, ob auch hier die Fähigkeit aromatischer Substanzen, beim Alkaptonuriker Homogentisinsäure und in der isolierten Leber Acetessigsäure zu bilden, miteinander parallel gehen, und ich habe daher einige Durchblutungsversuche mit der nicht homogentisinsäurebildenden p-Oxyphenyl-α-milchsäure und der homogentisinsäurebildenden p-Oxyphenylbrenztraubensäure vorgenommen.[2])

[1]) O. Neubauer, Über den Abbau der Aminosäuren im gesunden und kranken Organismus. Arch. f. klin. Med. 95, 211, 1909.

[2]) Nach Abschluß dieser Arbeit erschien eine Mitteilung von O. Neubauer und W. Groß, die denselben Gegenstand mit annähernd den gleichen Ergebnissen behandelt (O. Neubauer und W. Groß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 219, 1910).

Die Versuchsanordnung war ganz die gleiche wie in den früheren von Embden und seinen Mitarbeitern vorgenommenen Versuchen. Ich bediente mich des bereits in einem Teil der Versuche von Embden und Wirth[1]) zur Anwendung gelangten automatischen Apparates. Die Dauer der Durchblutung betrug in allen Fällen 60 Minuten.

Die übrigen Einzelheiten der Versuchsanordnung gehen zum Teil aus der Tabelle hervor, zum Teil sind sie aus den früheren Arbeiten über Acetessigsäurebildung in der Leber ersichtlich.

Die Darstellung der p-Oxyphenyl-α-milchsäure geschah aus l-Tyrosin in einer der von Kotake[2]) angegebenen sehr ähnlichen Weise. Herr Prof. Ellinger hatte die Liebenswürdigkeit, uns dieses Verfahren bereits vor der Publikation mitzuteilen. Die p-Oxyphenyl-α-milchsäure hatte nach öfterem Umkrystallisieren ganz die von Kotake beschriebenen Eigenschaften, nur lag der Schmelzpunkt merklich höher, als Blendermann[3]) und Kotake ihn fanden. Der Schmelzpunkt der sehr oft aus heißem Wasser umkrystallisierten Substanz betrug 170 bis 171°, doch gelang es mehrfach nicht, eine Substanz mit höherem Schmelzpunkt als 168 bis 169° darzustellen.

Die p-Oxyphenylbrenztraubensäure wurde in der von Neubauer[4]) beschriebenen Art gewonnen. Auch hier erwiesen sich mir einige briefliche Mitteilungen von Herrn Prof. Ellinger über Einzelheiten der Darstellung als sehr nützlich. Die p-Oxyphenylbrenztraubensäure hatte den von Neubauer angegebenen Schmelzpunkt von 220°.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind aus der untenstehenden Tabelle ersichtlich. Wie aus Kolonne 7 dieser Tabelle hervorgeht, betrug in den beiden Versuchen mit p-Oxyphenyl-α-milchsäure (Versuch 1 und 2) die gebildete Acetonmenge pro Liter des Durchblutungsblutes 32 resp. 38 mg, während die maximalen bei Durchblutung ohne Zusatz gewonnenen Werte 27 mg (in neueren Versuchen manchmal ganz wenig mehr) betrugen.

Ich will hier die Frage unerörtert lassen, ob die geringe Steigerung der Acetessigsäurebildung gegenüber Durchblutungsversuchen ohne Zusatz wirklich auf einen Abbau der p-Oxyphenyl-α-milchsäure zurückzuführen ist oder nicht.

Sehr viel klarer liegen die Verhältnisse bei der p-Oxyphenylbrenztraubensäure, die sich in zwei übereinstimmenden

---

[1]) Embden und Wirth, Über Hemmung der Acetessigsäurebildung in der Leber. Diese Zeitschr. 27, 1, 1910.

[2]) Jashiro Kotake, Über l-Oxyphenylmilchsäure und ihr Vorkommen im Harn bei Phosphorvergiftung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 397, 1910.

[3]) H. Blendermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 256, 1882.

[4]) O. Neubauer, l. c. S. 230.

Versuchen als ein Acetessigsäurebildner von ganz besonderer Mächtigkeit erwies. (Acetonbildung pro Liter in Versuch 3 und 4 143 und 157 mg.)

Tabelle.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Gewicht des Hundes kg	Gewicht der Leber g	Menge Rinderblut ccm	Dauer der Durchblutung Min.	Dem Durchblutungsblut zugefügte Substanz	Gebildete Menge Aceton pro Liter des Durchblutungsblutes mg
1	5,5	135	1600	60	2 g l-p-Oxyphenyl-α-milchsäure, mit NH_3 neutralisiert	32
2	6,6	170	1600	60	2 g l-p-Oxyphenyl-α-milchsäure, mit NH_3 neutralisiert	38
3	4,6	95	1600	60	2 g p-Oxyphenylbrenztraubensäure, mit NH_3 neutralisiert	143
4	4,8	130	1600	60	2 gp-Oxyphenylbrenztraubensäure, mit NH_3 neutralisiert	157

Es bestätigt sich also auch bei p-Oxyphenyl-α-milchsäure und p-Oxyphenylbrenztraubensäure, daß dieselben Substanzen, die beim Alkaptonuriker in Homogentisinsäure übergehen, bei der Durchblutung der Leber Acetessigsäure bilden.

Liefern sonach meine Versuche eine Bestätigung der von Neubauer an Alkaptonurikern beobachteten Tatsachen, insofern nämlich p-Oxyphenyl-α-milchsäure zum mindesten außerordentlich viel schwerer als p-Oxyphenylbrenztraubensäure unter Acetessigsäurebildung abgebaut wird, so möchte ich es an dieser Stelle doch nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß nach mancherlei Beobachtungen (siehe namentlich die kürzlich erschienene Arbeit von Fr. Sachs[1]) die von Neubauer aus seinen Versuchen gezogenen theoretischen Schlußfolgerungen wenigstens in ihrer Verallgemeinerung über das Ziel hinauszugehen scheinen.

[1]) Fr. Sachs, Über den Chemismus des Leucinabbaues in der Leber. Diese Zeitschr. 27, 27, 1910.

Über den Einfluß der Zellipoide auf die Autolyse der Weizenkeime.

Von

Marie Korsakow.

(Aus dem botanischen Institut der Frauenhochschule in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 25. Juli 1910.)

Die Zellipoide spielen im Leben der Zelle eine hervorragende Rolle. Ungeachtet der ziemlich umfangreichen Literatur über die Zellipoide, kann ihre Bedeutung in der Tier- und Pflanzenzelle keineswegs als klargestellt angesehen werden.

Besonders wichtig zur Klarlegung obiger Frage erweist sich die Untersuchung des Verhältnisses der Lipoide zur Fermenttätigkeit der Zelle; Bang[1]) schreibt ihnen einen überaus großen Einfluß auf die Funktion der Fermente zu, doch ist ihre Rolle hierbei nicht aufgeklärt; er ist der Meinung, daß es nicht Zellipoide sein können, da sie sich in deren gewöhnlichen Lösungsmitteln nicht auflösen lassen. Seiner Ansicht nach wirken die Zellipoide in einzelnen Fällen als Aktivatoren, in anderen als Koenzyme der Fermente.

Betreffs dieser Frage verfügen wir einstweilen über ein nur sehr ungenügendes Beweismaterial. Dank den Untersuchungen Küttners[2]) ist festgestellt worden, daß der Einfluß des Lecithins auf die Funktion des Pepsins in Abhängigkeit von der Menge des Lecithins bald ein stimulierender, bald ein hemmender ist. Schmidt[3]) bewies, daß die Lipoide (zymoplastische Substanzen) als Aktivatoren der Fibrinwirkung zu betrachten sind.

Von ganz neuen Gesichtspunkten ausgehend und auf Grund eigenartig vorgenommener Experimente haben sich W. Palladin und E. Stanewitsch[4]) zu dieser Frage gestellt. W. Palladin machte es sich zur Aufgabe, festzustellen, wie die Entfernung der Zellipoide aus der Zelle auf den Gang dieses oder jenes physiologischen Prozesses einwirkt. Die

[1]) J. Bang, Ergebn. d. Physiol., 8. Jahrg., 3, 467.

[2]) Küttner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 472.

[3]) A. Schmidt, Zur Blutlehre, Leipzig 1872.

[4]) W. Palladin und E. Stanewitsch, diese Zeitschr. 26, 351, 1910.

Eigenart seiner Methode bestand darin, daß der Einfluß der Lipoide nicht vermittels ihrer Beifügung zum Ferment beobachtet wurde, sondern durch Entfernung der Lipoide aus dem betreffenden Material, nämlich der Weizenkeime und dem Hefanol. Die angestellten Versuche bewiesen, daß die Entfernung der Zellipoide die Ausscheidung der Kohlensäure sowohl bei Keimen als bei Hefanol ungünstig beeinflußt.

Parallel zu den Fragen über das Atmen, war es interessant, festzustellen, wie die Entfernung der Lipoide auf die Tätigkeit der proteolytischen Fermente einwirkt.

Auf Anregung und unter Anleitung von Prof. W. Palladin wurden von mir zur Ergründung dieser Frage Versuche angestellt. Herrn Prof. Palladin spreche ich dafür meinen besten und aufrichtigen Dank aus.

Um die Einwirkung der Lipoide auf die proteolytischen Fermente festzustellen, wählte ich als Untersuchungsobjekt Weizenkeime und überließ sie einer 7tägigen Autolyse.

Die Vorarbeit zum Experiment, d. h. das Extrahieren der Keime, geschah genau in derselben Weise, wie es in der oben zitierten Arbeit geschildert ist.[1]) Der Unterschied in der Anordnung meiner Versuche bestand darin, daß ich mich dabei fein pulverisierter Keime bediente. So wurde einerseits eine vollständigere Entfernung der Lipoide erzielt, anderseits stellten alle der Autolyse unterworfenen Keime ein absolut homogenes Pulver dar. Die der Extrahierung unterworfenen Keime wurden in Portionen à 0,4 und 0,7 g gewogen. Jede Portion wurde in einen kleinen Erlenmeyerschen Kolben geschüttet und mit 25 ccm Wasser, 2 ccm Toluol und einer sehr kleinen Portion Thymol aufgelöst. Der Kolben wurde verkorkt und die in ihm befindlichen Keime einer siebentägigen Autolyse bei Zimmertemperatur (18 bis 20°) überlassen. Der Kolben wurde täglich durchgeschüttelt und zum Schluß des Experiments, um sich vom sterilen Zustande des Inhalts zu überzeugen, eine mikroskopische Untersuchung vorgenommen. Die Menge des Eiweißstickstoffs ist nach Stutzers Methode festgestellt worden. In der ersten Serie gleichzeitig angestellter Untersuchungen wurden die Lipoide dreier verschiedenartiger Extraktionsmittel — Benzin, Alkohol und Aceton — ausgesetzt. Die Resultate dieser Experimente sind in den ersten 4 Tabellen aufgeführt.

---

[1]) W. Palladin und E. Stanewitsch, l. c. S. 358.

Versuch 1.
Nicht extrahierte Weizenkeime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,3369	0,02131	5,38	5,30	100
	0,5386	0,02929	5,22		
Nach der Autolyse	0,6164	0,02233	3,62	3,67	69,3
	0,5804	0,02162	3,72		
					– 30,7

Versuch 2.
Mit Benzin extrahierte Weizenkeime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,6867	0,03987	5,80	5,95	100
	0,6443	0,03987	6,19		
	0,5625	0,03306	5,87		
Nach der Autolyse	0,7182	0,03378	4,70	4,72	79,4
	0,7873	0,03596	4,56		
	0,6156	0,03016	4,89		
					– 20,6

Versuch 3.
Mit 95% Alkohol extrahierte Keime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,5368	0,03508	6,53	6,57	100
	0,4631	0,03059	6,62		
Nach der Autolyse	0,6711	0,03610	5,38	5,37	81,8
	0,5675	0,03074	5,42		
	0,4924	0,02624	5,33		
					– 18,2

Versuch 4.
Mit Aceton extrahierte Keime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,6421	0,03509	5,46	5,64	100
	0,7314	0,04263	5,82		
Nach der Autolyse	0,4369	0,02131	4,87	4,79	85,0
	0,5819	0,02742	4,71		
					– 15,0

Vermittels der hauptsächlich an tierischen Lipoiden vorgenommenen Experimente ist festgestellt worden, daß ver-

schiedene Extraktionsmittel in ein und denselben Gewebearten verschiedene Zellipoide und zudem noch in wechselnder Menge ausziehen. Die Literatur bietet nicht genügend Material, um festzustellen, welches Extraktionsmittel dazu geeignet wäre, bestimmte Lipoide fortzunehmen. Im Vergleich mit Alkohol entzieht Aceton den tierischen Geweben eine geringere Menge von Lecithin und Phosphatiden, dafür aber viel Cholesterin und Fette. Die Tabelle der Arbeit W. Palladin und E. Stanewitschs enthält Daten über die Menge der durch verschiedenartige Extraktionsmittel gewonnenen Lipoide, und weist darauf hin, daß der Zelle mittels Aceton bedeutend weniger der letzteren entzogen werden, als mit Hilfe von Alkohol. Die von mir in den erwähnten 4 Tabellen aufgeführten Versuche zeigen, daß durch die Entziehung der Zellipoide eine Hemmung der Autolyse der Weizenkeime bewirkt wird. Bei Betrachtung der Ergebnisse oben erwähnter Experimente verdient der Umstand Beachtung, daß wir gleichzeitig mit zwei verschiedenen Faktoren zu rechnen haben: einerseits mit der Entziehung der Zellipoide aus den Weizenkeimen, anderseits mit der schädlichen Einwirkung der Extraktionsmittel auf die Weizenkeime.[1]) Von welcher Bedeutung diese letztere Einwirkung auf die Tätigkeit der proteolytischen Enzyme ist, kann aus meinen Versuchen nicht festgestellt werden.

In der zweiten Versuchsreihe wurde eine neue Portion von Weizenkeimen zermahlen und extrahiert. Die Resultate sind aus folgenden Tabellen ersichtlich.

Versuch 5.

Nicht extrahierte Weizenkeime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,6116	0,03248	5,31	5,25	100
	0,5501	0,02885	5,24		
	0,5394	0,02842	5,27		
	0,6466	0,03349	5,18		
Nach der Autolyse	0,6750	0,02494	3,69	3,75	71,4
	0,7097	0,02798	3,94		
	0,7945	0,02884	3,63		
					−28,6

[1]) Auf Eiweißstoffe oder auf proteolytisches Enzym?

Versuch 6.

Mit Petroläther extrahierte Keime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,7852	0,04509	5,74	5,75	100
	0,5783	0,03320	5,70		
Nach der Autolyse	0,7620	0,03349	4,39	4,32	75,2
	0,7164	0,03045	4,25		
					− 24,8

Versuch 7.

Mit Äther extrahierte Keime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,5157	0,02871	5,52	5,56	100
	0,5647	0,03233	5,72		
	0,5971	0,03228	5,45		
Nach der Autolyse	0,5870	0,02595	4,42	4,33	77,9
	0,6571	0,02668	4,26		
	0,7543	0,03248	4,30		
					− 22,1

Versuch 8.

Mit 95% Alkohol extrahierte Keime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,5998	0,03927	6,52	6,50	100
	0,6002	0,03801	6,48		
Nach der Autolyse	0,6999	0,03523	5,03	5,33	82,0
	0,6621	0,03668	5,52		
	0,6320	0,03451	5,46		
					− 18,0

Versuch 9.

Mit Methylalkohol extrahierte Keime.

	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N	In % der Trockensubstanz	Durchschnitt	In % der Kontrollportion
Kontrollportion	0,6014	0,04654	7,61	7,59	100
	0,5875	0,04451	7,56		
Nach der Autolyse	0,5276	0,03538	6,70	6,59	86,8
	0,6005	0,03929	6,53		
	0,5984	0,03886	6,56		
					− 13,2

Wenn wir in der Kontrollportion die Menge (28,6 %) des bei der Autolyse zersetzten Eiweißes = 100 setzen, so erhalten wir folgendes Verhältnis:

Nicht extrahierte Weizenkeime. Kontrollportion	100	
Extrahierte Weizenkeime: Mit Petroläther . . .	86,7	−13,3 %
„ „ „ Äther	77,2	−22,8 %
„ „ „ Benzin	67,1	−32,9 %
„ „ „ Alkohol	58,9—62,9	−39,1 %
„ „ „ Aceton	48,8	−51,2 %
„ „ „ Methylalkohol .	46,1	−53,9 %

Folglich übt die Entfernung der Lipoidstoffe aus der Zelle einen hemmenden Einfluß auf die Tätigkeit des proteolytischen Ferments aus.

Besonders ungünstig wirkt die Extraktion der Lipoide mittels Methylalkohol auf die Autolyse. Über die Menge der extrahierten Lipoide läßt sich, meines Erachtens, nach der prozentualen Erhöhung des Eiweiß-Stickstoffgehaltes in den der Wirkung des Extraktionsmittels ausgesetzt gewesenen Keimen urteilen. Bei Anwendung dieses Kriteriums ist ersichtlich, daß ein gewisser Zusammenhang zwischen der hemmenden Wirkung der Lipoidentziehung auf die Autolyse und der Menge der durch verschiedene Flüssigkeiten extrahierbaren Lipoide besteht. Dieser Zusammenhang wird aus folgender Tabelle ersichtlich:

	Eiweiß-N in % der Trockensubstanz	% des verdauten N
Lebende Keime	5,25	28,6
Mit Petroläther extrahierte Keime . .	5,75	24,8
„ Äther extrahierte Keime	5,56	22,1
„ Alkohol extrahierte Keime . . .	6,50	18,0
„ Methylalkohol extrahierte Keime .	7,59	13,2
„ Aceton extrahierte Keime	5,64	15,0

Wir sehen aus dieser Tabelle, daß, je mehr Lipoidstoffe der Zelle entzogen werden, desto schwächer sich die Autolyse vollzieht. Doch hat diese Regel Ausnahmen. Aceton extrahiert wenig Lipoide, beeinflußt aber nichtsdestoweniger das proteolytische Ferment nachteilig.

Über das Vorkommen des freien Guanosins in der Pankreasdrüse.

Von

P. A. Levene und W. A. Jacobs.

(Aus dem Rockefeller Institut for Medical Research, New York.)

(*Eingegangen am 4. August 1910.*)

Wie bekannt, hat J. Bang[1]), der nach einem Verfahren von Hammarsten die Guanylsäure darstellte, als Ausgangsmaterial das Hammarstensche Nucleoproteid benutzt. Dasselbe Verfahren wurde auch von anderen Forschern,[2]) die sich mit der Untersuchung dieser Substanz beschäftigt hatten, verfolgt. Nun läßt sich selbstverständlich unter solchen Bedingungen nur ein kleiner Teil der in der Drüse wirklich vorkommenden Substanz gewinnen. Da es uns aber daran lag, größere Quantitäten der Guanylsäure zu erhalten, so haben wir uns bemüht, ein Verfahren zur direkten Gewinnung der Säure aus der Drüse auszuarbeiten. Dieses Problem haben wir ohne große Schwierigkeiten lösen können. Es stellte sich aber bald heraus, daß aus mancher Drüse mit der Guanylsäure direkt das freie Guanosin mitfällt. Nicht selten kommt sogar das Guanosin in viel größeren Mengenverhältnissen als die Nucleinsäure vor. Dieser Befund ist von Interesse, hauptsächlich weil er auf den Gang der Nucleinsäurespaltung bei der Autolyse der Organe hinzeigt. Es ist auch von Interesse wegen der neuen Entdeckung von E. Schultze[3]), daß seine

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 133, 1898.

[2]) Jones und Rowntree, Journ. of Biolog. Chem. 4, 289, 1908. — Steudel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 540, 1907. — Levene und Mandel, diese Zeitschr. 10, 221, 1908.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 128, 1910.

Base Vernin, deren Konstitution bis jetzt nicht bekannt war, mit dem Guanosin identisch ist. Nun ist bewiesen worden, daß auch die pflanzliche Nucleinsäure, die Triticonucleinsäure, Guanosin in ihrem Moleküle enthält. Also auch das in den Pflanzen vorkommende freie Guanosin ist ein Produkt der Autolyse oder ein Stoffwechselprodukt der Nucleinsäure. Weiter macht dieser Befund notwendig, zu erforschen, ob vielleicht die analytischen Unterschiede, die Bang bei verschiedenen Präparaten der Guanylsäure konstatiert hat und die ihn zu der Annahme von α- und β-Guanylsäure führten, auch nur durch die Verunreinigung mit Guanosin verursacht waren.

Man gewinnt jetzt die Überzeugung, daß das Guanosin in der Drüse präformiert war und nicht etwa durch die chemischen Eingriffe aus der Guanylsäure in Freiheit gesetzt wird. Man ist zur Annahme des präformierten Guanosins schon deswegen berechtigt, weil die Substanz nicht aus allen Drüsen sich gewinnen läßt, obwohl die chemischen Eingriffe unverändert bleiben. Ferner ist aus dem experimentellen Teile ersichtlich, daß der einzige Faktor, der bei diesem Vorgang hydrolytisch wirken könnte, die 5%ige Kalilauge ist. Nun ist es von uns erwiesen worden, daß Nucleinsäure auch in kochender 5%iger Lauge ziemlich resistent ist, während in dem vorliegenden Verfahren die Lauge nur bei einer Temperatur von etwa 60° C einwirkt.

Experimenteller Teil.

Die Drüsen werden in einer Hackmaschine zerhackt und mit Wasser aufgekocht. In das noch heiße Gemisch wird Kaliumacetat bis zu einem Gehalt von 5% eingetragen. Nach dem Abkühlen auf etwa 60° C wird das Gemisch mit 50%iger Kalilauge bis zu einem Gehalte von 5% versetzt und dann über Nacht stehen gelassen. Es wird dann das Eiweiß mittels Pikrinsäure und Essigsäure entfernt. Das eiweißfreie Filtrat enthält neben anderem auch die Thymonucleinsäure und die Guanylsäure. Um diese zu trennen, wird in das Filtrat eine 25%ige Bleizuckerlösung eingetragen, solange sich noch ein Niederschlag bildet. Dieser Niederschlag enthält das Bleisalz der Thymonucleinsäure, mit dem noch etwas Guanylsäure und Guanosin mitgerissen werden können. Um diese zu entfernen, wird der Bleizuckerniederschlag mit Wasser aus-

gekocht, heiß filtriert und dieses Filtrat mit dem ersten Filtrate vom Bleizuckerniederschlage vereinigt. In diesen Filtraten bildet sich nach Zugabe von Ammoniak ein zweiter Niederschlag, der je nach der Drüse aus einer Bleiverbindung entweder der Guanylsäure oder der Guanylsäure und des Guanosins besteht. Um diese in Freiheit zu setzen, wird die Bleiverbindung in Wasser suspendiert und durch die kochendheiße Suspension wird Schwefelwasserstoff geleitet. Die vom Bleisulfid abfiltrierte Lösung wird bei vermindertem Druck und etwa bei 60° C bis zu dicker Konsistenz eingedampft und im Kälteraum bei 1° C stehen gelassen. Es scheidet sich dabei ein Niederschlag ab, der je nach der Drüse entweder aus roher Guanylsäure oder auch aus Guanosin besteht. Wenn der Niederschlag aus einem Gemische der zwei Substanzen besteht, können diese leicht auf die folgende Weise getrennt werden. Das Rohprodukt wird mittels eines Überschusses von Ammoniak in heißem Wasser gelöst und auf einer Nutsche heiß in Alkohol filtriert. Es bildet sich dabei ein Niederschlag des Ammoniumsalzes der Guanylsäure; das Filtrat enthält das Guanosin. Wird das Filtrat bei vermindertem Druck eingedampft, so scheidet sich das Guanosin in langen primatischen Nadeln ab. Zur Analyse braucht die Substanz nur einmal aus verdünntem (etwa 60%igem) Alkohol umkrystallisiert zu werden.

0,1330 g der lufttrocknen Substanz haben nach dem Trocknen im Toluolbad über Phosphorsäureanhydrid 0,0160 g an Gewicht verloren.

0,1165 g Substanz gaben 0,1818 g CO_2 und 0,0510 g H_2O; für $C_{10}H_{13}N_5O_5 + 2H_2O$:

Ber.: C = 42,40 H = 4,59 H_2O = 11,84
Gef.: C = 42,55 H = 4,86 H_2O = 12,03

Die Substanz gab eine starke Orcinprobe; bei der Hydrolyse mittels verdünnter Mineralsäuren erhält man Guanin. Fehlingsche Lösung wurde reduziert.

Der Niederschlag, der bei dem Behandeln der ammoniakalischen Lösung mittels Alkohol entstanden ist, bestand aus Ammoniumsalzen der Guanylsäure. Zur Reinigung löst man die Substanz in verdünnter Alkalilösung und fällt mit Alkohol.

Solche Präpärate sind biuretfrei und wurden, wie ich schon erwähnt, zur Hydrolyse für die Darstellung des Guanosins gebraucht.[1]) Es ist uns bis jetzt nicht gelungen, Präparate von konstanter Zusammensetzung zu gewinnen. Das beste Präparat, als Bariumverbindung dargestellt, enthielt 7,25 % P und 15,40 % N auf bariumfreie Substanz berechnet. Die Theorie für $H_2PO_3 . C_{10}H_{12}O_5N_5$ verlangt P = 8,47; N = 19,18 %. Da das Verhältnis von Stickstoff zum Phosphor im gefundenen Präparate dem theoretischen fast gleich war, so ist es möglich, daß die Bariumverbindung noch mit anderen anorganischen Substanzen verunreinigt war.

Wir sind jetzt mit der Ausarbeitung einer Methode zur Gewinnung der Guanylsäure von konstanter Zusammensetzung beschäftigt.

---

[1]) Levene und Jacobs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 2469, 1909.

Über Invertaseeigenschaften in Malzextrakten.

Von

A. J. J. Vandevelde.

(Aus dem städt. chemisch-bakteriologischen Laboratorium und höheren Gärungsinstitut zu Gent, Belgien.)

(Eingegangen am 5. August 1910.)

In einer früheren Mitteilung[1]) habe ich gezeigt, daß die polarimetrischen Umsetzungen einer Rohrzuckerauflösung sehr beschleunigt werden, wenn diese Auflösung unter dem Einfluß von gewissen Organextrakten, bei der Anwesenheit von Jodoform-Aceton[2]) aufbewahrt wird. Mit einer starken Verminderung der positiven Polarisation wurde gleichzeitig auch eine stärkere Erhöhung des Reduktionsvermögens beobachtet, und somit eine stärkere Inversion in Fructose und Glucose festgestellt:

	Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
Ohne Extrakt	0	+ 4° 8′	0
„ „	405	0	0,212 g
Mit Pankreasextrakt	0	+ 4° 9′	0
„ „	405	− 1° 20′	0,266 g

Ich habe auch die Wirkung eines Grünmalzextraktes[3]) untersucht, und aus einer vorläufigen Untersuchung mit Rohrzucker ließ sich auch eine Beschleunigung der Inversion feststellen: 20 ccm Malzextrakt wurden mit 70 ccm 5°/₀iger Rohrzuckerauflösung versetzt und mit Jodoform-Aceton bei 37° C aufbewahrt. Für die polarimetrischen Proben wurden 20 ccm

---

[1]) A. J. J. Vandevelde, Über polarimetrisch meßbare Zuckerzerstörungen in physiologischen Flüssigkeiten. Diese Zeitschr. 23, 324, 1909.

[2]) A. J. J. Vandevelde, Über die Anwendung von Antiseptiken bei Untersuchungen über Enzyme. Diese Zeitschr. 3, 315, 1907.

[3]) Nach H. Van Laer, Bull. service surv. denrées alim. Belg., 1901, 250.

der Mischungen mit 10 ccm 5 %igem essigsaurem Blei und 10 ccm einer gesättigten Natriumsulfatlösung versetzt und das Filtrat in einem 20 cm-Rohre des Laurentschen Polarimeters untersucht. Die Proben wurden dreimal wiederholt.

	Nach Tagen	Polarisation		
Ohne Malzextrakt	0	+ 2° 20′	+ 2° 20′	+ 2° 20′
„ „	1	+ 2° 18′	+ 2° 20′	+ 2° 20′
„ „	230	+ 2° 8′	+ 2° 6′	+ 2° 5′
Mit Malzextrakt	0	+ 2° 30′	+ 2° 30′	+ 2° 30′
„ „	1	+ 2° 10′	+ 2° 10′	+ 2° 10′
„ „	230	− 30′	− 24′	− 28′

In einer neuen Reihe wurden die folgenden Mischungen benutzt und bei 37° C aufbewahrt.

	20 %ige Rohrzuckerauflösung	Grünmalzextrakt	Wasser	3 %iges Jodoformketon
	ccm	ccm	ccm	ccm
A	20	—	80	10
B	40	—	60	10
C	60	—	40	10
D	80	—	20	10
E	—	20	80	10
F	20	20	60	10
G	40	20	40	10
H	60	20	20	10
I	80	20	—	10

Auf diese Weise könnte die Wirkung des Extraktes auf verschiedene Zuckermengen untersucht und auch die eigentümliche Inversion der Zuckerauflösungen selbst bestimmt werden.

Die polarimetrischen Messungen wurden, wie oben mitgeteilt, ausgeführt; 5 ccm des Filtrates wurden mit der Fehlingschen Lösung versetzt, und die Reduktionswerte in reduziertem Kupfer ausgedrückt.

Polarisation.

		Nach 0 Tagen	Nach 200 Tagen
Saccharose allein	A	+ 2° 26′	+ 2° 24′
	B	+ 4° 42′	+ 4° 38′
	C	+ 7° 14′	+ 7°
	D	+ 9° 34′	+ 9° 30′
Malzextrakt	E	+ 20′	+ 12′
Saccharose + Malzextrakt	F	+ 2° 29′	− 44′
	G	+ 4° 54′	− 1° 17′
	H	+ 7° 16′	− 1° 42′
	I	+ 9° 38′	− 1° 44′

Reduktion.

		Nach 0 Tagen	Nach 200 Tagen
		g	g
Saccharose allein	A	0	0,0132
	B	0	0,0119
	C	0	0,0182
	D	0	0,0354
Malzextrakt	E	0,0312	0,0376
Saccharose + Malzextrakt	F	0,0312	0,1827
	G	0,0312	0,3480
	H	0,0312	0,4150
	I	0,0312	0,6220

Aus diesen Ergebnissen läßt sich ein bedeutendes, jedoch langsam invertierendes Vermögen des Grünmalzextraktes bestätigen; werden aus den Werten für Rohrzucker + Malzextrakt die Werte für Rohrzucker allein und Malzextrakt allein abgezogen, dann werden die Inversionswerte für die Wirkung des Malzes bei der Anwesenheit verschiedener Zuckermengen erhalten.

Nach 200 Tagen.

	Rohrzucker	Inversionswerte in Kupfer	
	g	g	
F	4	0,1319	(0,1319 × 1 = 0,1319)
G	8	0,2985	(0,1319 × 2 = 0,2638)
H	12	0,3592	(0,1319 × 3 = 0,3957)
I	16	0,5490	(0,1319 × 4 = 0,5276)

Diese Wirkung steht demnach mit den Rohrzuckermengen in einem direkten Verhältnis.

Die Invertase des Malzextraktes zeigt bei Hefen eine viel schwächer hydrolysierende Kraft als bei Aspergillus niger[1]), bei zahlreichen Bakterien[2]), bei grünen Blättern und jungen Baumtrieben[3]), bei Früchten[4]) usw. und kann allein bei langem aseptischem Aufbewahren nachgewiesen werden.

[1]) A. Fernbach, Thèse, Paris 1890.

[2]) Fermi und Montenoso, Centralbl. f. Bakt. 2, 1, 1895.

[3]) Kastle und Clark, Amer. chem. Journ. 30, 1903.

[4]) Vinson, Journ. Amer. chem. Soc. 30, 1005, 1908.

Über die Wirkung von Fluornatrium auf Pepsin und Trypsin.

Von

A. J. J. Vandevelde und Edm. Poppe.

(Aus dem städt. chemisch-bakteriologischen Laboratorium zu Gent, Belgien.)

(Eingegangen am 5. August 1910.)

Von S. Amberg und A. S. Loevenhart[1]) wurde beobachtet, daß Fluorsalze die Wirkung von Lipase auf sehr starke Weise verzögern, eine Eigenschaft, auf welcher die Verfasser eine biochemische Methode zum Aufsuchen von Fluorverbindungen in Nahrungsmitteln ausarbeiteten.

In unseren Untersuchungen wurde die Wirkung von Fluornatrium auf die Verdauung von Hühnereiweiß, Blutfibrin und Kuhmilchprotein durch Pepsin und Trypsin untersucht. Dazu wurden die in den Protokollen angegebenen Mengen folgender Lösungen bereitet:

1. Fluornatrium: 0,12 g in 100 ccm 0,8%iger Kochsalzlösung. — 2. Chlornatrium: 0,8 g in 100 ccm destilliertem Wasser. — 3. Pepsin: 0,2 g des Merckschen Trypsins in 100 ccm 0,8%iger Kochsalzlösung. — 4. Trypsin: 0,2 g des Merckschen Trypsins in 100 ccm 0,8%iger Kochsalzlösung. — 5. Salzsäure: 1% in 0,8%iger Kochsalzlösung. — 6. Natriumcarbonat: 1% in 0,8%iger Kochsalzlösung.

Zum Verdauen dienten die folgenden Produkte:

1. Eiweiß: 140 ccm Albumin aus Hühnereiern mit physiologischer Kochsalzauflösung zu 400 ccm gebracht; diese Auflösung wurde nach starkem Schütteln durch Watte filtriert und enthält 0,3 bis 0,4 g Protein. — 2. Fibrin: Trocknes

---

[1]) Further observations on the inhibiting effect of fluorids on the action of lipase, together with a method for the detection of fluorids in food products. Journ. Biol. Chem. 4, 149 bis 164, 1908.

Blutfibrin, fein gepulvert und je in Mengen von 1 g, entsprechend 0,8644 g auf 110° C getrockneter Substanz. — 3. Milchprotein: Zentrifugierte Kuhmilch erst auf 100° C erwärmt, durch Watte filtriert und vom Albuminniederschlag befreit, in Röhrchen in Mengen von je 25 ccm bei 100° C sterilisiert.

Die Mischungen wurden steril mit 10 Vol.-% einer Auflösung von 10 ccm Chloroform in 100 ccm Aceton[1]) aufbewahrt.

Die Dosierung der übriggebliebenen, nicht verdauten Proteine wurde ausgeführt — für das Eiweiß durch Präcipitieren von 10 ccm Flüssigkeit mit 40 ccm 83 vol.-%igem Äthylalkohol[2]), Auffangen des Niederschlages auf einen tariertem, trocknem Filter und Auswaschen mit 50 ccm 66 vol.-%igem Äthylalkohol; — für das Fibrin durch Wägen der übriggebliebenen und getrockneten Substanz; — für die Milch durch Fällung des Proteins aus 25 ccm Milch mit wenig verdünnter Essigsäure.

Wie die in folgenden Protokollen vereinigten Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, konnte kein Unterschied zwischen den fluorfreien und fluorhaltigen Mischungen festgestellt werden.

Eiweiß und Pepsin.

In 55 ccm Mischung sind je 40 ccm Eiweißauflösung und 5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temperatur 18° C und nach 10 Tagen 37° C. Ausgefälltes Albumin aus 10 ccm Eiweißauflösung = 0,3845 g.

Pepsin = P Säure = S	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm ausgefälltes Albumin aus 10 ccm Mischung nach Tagen		
		Pepsin	HCl	NaFl	NaCl	1	6	30
Eiweiß allein	—	—	—	—	10	0,2420	0,2400	0,2159
Eiweiß + P .	—	5	—	—	5	0,2340	0,2320	0,2187
Eiweiß + P+S	—	5	2	—	3	0,2429	0,2414	0,2253
Eiweiß allein	0,01	—	—	1	9	0,2323	0,2375	0,2078
Eiweiß + P .	0,01	5	—	1	4	0,2416	0,2339	0,2260
Eiweiß + P+S	0,01	5	2	1	2	0,2472	0,2413	0,2165
Eiweiß allein	0,03	—	—	3	7	0,2339	0,2311	0,2278
Eiweiß + P .	0,03	5	—	3	2	0,2434	0,2288	0,2203
Eiweiß + P+S	0,03	5	2	3	—	0,2421	0,2435	0,2280

[1]) A. J. J. Vandevelde, Over het gebruik van chloroform-, bromoform- en iodoformketoon in proeven over enzymen. Handel. 12 Vl. Nat. Gen. Congres 1908, 175.

[2]) Die ganze Mischung entspricht dann 66 vol.-%igem Alkohol. Siehe: A. J. J. Vandevelde, Über die Wirkung der Erwärmung auf Proteolase. Diese Zeitschr. 18, 142, 1909.

Eiweiß und Trypsin.

In 55 ccm Mischung sind je 40 ccm Eiweißauflösung und 5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temperatur 18° C und nach 3 Tagen 37° C. Ausgefälltes Albumin aus 10 ccm Eiweißauflösung = 0,3151 g.

Trypsin = T Alkalisch = A	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm ausgefälltes Albumin aus 10 ccm Mischung nach Tagen		
		Trypsin	Na_2CO_3	NaFl	NaCl	3	8	17
Eiweiß allein	—	—	—	—	10	0,2108	0,2083	0,1950
Eiweiß + T .	—	5	—	—	5	0,2094	0,1856	0,1834
Eiweiß + T + A	—	5	2	—	3	0,1928	0,1846	0,1892
Eiweiß allein	0,01	—	—	1	9	0,2122	0,1937	0,1992
Eiweiß + T .	0,01	5	—	1	4	0,2094	0,1720	0,1740
Eiweiß + T + A	0,01	5	2	1	2	0,1931	0,1763	0,1789
Eiweiß allein	0,03	—	—	3	7	0,2036	0,1935	0,1977
Eiweiß + T .	0,03	5	—	3	2	0,2008	0,1839	0,1857
Eiweiß + T + A	0,03	5	2	3	—	0,1922	0,1847	0,1825

Fibrin und Pepsin.

In 55 ccm Mischung sind je 1 g pulverisiertes Fibrin, entsprechend 0,8644 g trocknes Fibrin und 5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temp. = 18° C.

Pepsin = P Säure = S	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm trocknes Fibrin nach Tagen		
		Pepsin	HCl	NaFl	NaCl	1	4	11
Fibrin + P . .	—	5	—	—	45	0,8500	0,8232	0,8010
Fibrin + P + S	—	5	2	—	43	0,8533	0,8362	0,7724
Fibrin + P . .	0,01	5	—	1	44	0,8493	0,8276	0,8014
Fibrin + P + S	0,01	5	2	1	42	0,8457	0,8264	0,7930
Fibrin + P . .	0,03	5	—	3	42	0,8778	0,8455	0,8051
Fibrin + P + S	0,03	5	2	3	40	0,8435	0,8184	0,8091

Fibrin und Trypsin.

In 55 ccm Mischung sind je 1 g pulverisiertes Fibrin, entsprechend 0,8644 g trocknes Fibrin und 5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temp. = 18° C.

Trypsin = T Alkalisch = A	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm trocknes Fibrin nach Tagen	
		Trypsin	Na_2CO_3	NaFl	NaCl	7	40
Fibrin allein .	—	—	—	—	50	0,8250	0,8113
Fibrin + T .	—	5	—	—	45	0,7816	0,4700
Fibrin + T + A	—	5	2	—	43	0,7122	0,2868
Fibrin allein .	0,01	—	—	1	49	0,8333	0,8100
Fibrin + T .	0,01	5	—	1	44	0,7771	0,4971
Fibrin + T + A	0,01	5	2	1	42	0,7293	0,2959
Fibrin allein .	0,03	—	—	3	47	0,8320	0,8300
Fibrin + T .	0,03	5	—	3	42	0,7835	0,3684
Fibrin + T + A	0,03	5	2	3	40	0,7162	0,3152

Milchprotein und Pepsin.

In 38,5 ccm Mischung sind je 25 ccm Milch und 3,5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temperatur = 18° C. Ausgefälltes Protein aus 25 ccm Milch = 0,8680 g.

Pepsin = P Säure = S	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm ausgefälltes Protein nach Tagen	
		Pepsin	HCl	NaFl	NaCl	1	4
Milch + P . .	—	5	—	—	5	0,8424	0,8185
Milch + P + S	—	5	2	—	3	0,8182	0,8035
Milch + P . .	0,01	5	—	1	4	0,8263	0,8203
Milch + P + S	0,01	5	2	1	2	0,8231	0,8090
Milch + P . .	0,03	5	—	3	2	0,8309	0,7953
Milch + P + S	0,03	5	2	3	—	0,8582	0,7844

Milchprotein und Trypsin (18°).

In 38,5 ccm Mischung sind je 25 ccm Milch und 3,5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temperatur = 18° C. Ausgefälltes Protein aus 25 ccm Milch = 0,8680 g.

Trypsin = T Alkalisch = A	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm ausgefälltes Protein nach Tagen	
		Trypsin	Na_2CO_3	NaFl	NaCl	1	2
Milch + T . .	—	5	—	—	5	0,1995	0,1766
Milch + T + A	—	5	2	—	3	0,1657	0,1600
Milch + T . .	0,01	5	—	1	4	0,1971	0,1770
Milch + T + A	0,01	5	2	1	2	0,1868	0,1715
Milch + T . .	0,03	5	—	3	2	0,1974	0,1858
Milch + T + A	0,03	5	2	3	—	0,1817	0,1718

Milchprotein und Trypsin (37°).

In 38,5 ccm Mischung sind je 25 ccm Milch und 3,5 ccm Chloroform-Aceton enthalten. Temperatur = 37° C. Ausgefälltes Protein aus 25 ccm Milch = 0,8680 g.

Trypsin = T Alkalisch = A	Gramm Fl pro Liter	Kubikzentimeter der Lösungen in den benutzten Mischungen				Gramm ausgefälltes Protein nach Tagen	
		Trypsin	Na_2CO_3	NaFl	NaCl	1	2
Milch + T . .	—	5	—	—	5	0,1570	0,1463
Milch + T + A	—	5	2	—	3	0,1440	0,1375
Milch + T . .	0,01	5	—	1	4	0,1484	0,1427
Milch + T + A	0,01	5	2	1	2	0,1394	0,1284
Milch + T . .	0,03	5	—	3	2	0,1442	0,1433
Milch + T + A	0,03	5	2	3	—	0,1391	0,1368

Beitrag zum Stoffwechsel des Morbus Addisonii.

Von

H. Beuttenmüller und Felicitas Stoltzenberg.

(Aus der Medizinischen Poliklinik zu Halle a. S.)

(Eingegangen am 5. August 1910.)

Geht der Morbus Addisonii mit charakteristischen Veränderungen des Stoffwechsels einher? Zahlreiche Untersucher haben sich mit dieser Frage beschäftigt, und ebenso zahlreiche Stoffwechselabnormitäten sind beschrieben worden. Wieder andere haben völlig normale Verhältnisse gefunden. Selbstverständlich müssen die Resultate differieren, je nach dem Stadium der Erkrankung; denn gegen das Ende dieser Affektion werden die speziellen Symptome zurücktreten hinter der allgemeinen Kachexie. Infolgedessen sind zur Beantwortung der Frage nur initiale, früh diagnostizierte Fälle zu verwenden. Einen solchen hatten wir im vergangenen Jahre Gelegenheit, genauer zu beobachten und berichten im folgenden über die Ergebnisse unserer Stoffwechseluntersuchungen. Noch vor deren Abschluß erschien eine Arbeit von Eiselt[1]), die denselben Gegenstand behandelt. Da in dieser Publikation die frühere Literatur sehr eingehend besprochen ist, so glauben wir auf sie verweisen zu dürfen.

Zunächst die klinischen Daten:

N. N., Gymnasiast, 16 Jahre alt. Hereditäre Verhältnisse ohne Belang. In den letzten Monaten schleichend erkrankt unter Erscheinungen von Muskelschwäche und Herabsetzung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Den Eltern fiel eine allmählich zunehmende dunklere Verfärbung der unbedeckten Hautpartien auf. Gelegentlich bestanden leichte Störungen der Verdauung, Durchfälle. Irgendwelche Erscheinungen von seiten der Lunge wurden nicht angegeben. Status: Schlanker, junger Mann von gracilem Knochenbau; allgemeiner Ernährungszustand ziemlich

---

[1]) Rudolf Eiselt, Beitrag zu Stoffwechseluntersuchungen bei Morbus Addisonii. Zeitschr. f. klin. Med. 69, 393, 1910.

gut. Schon beim ersten Anblick fällt eine leichte diffuse Bronzefärbung der Haut auf. Besonders ausgeprägt ist diese Pigmentierung an den Achselhöhlen, der Analfalte und dem Penis. Fleckige Braunfärbung der Lippen und der Konjunktiven; auf der Mundschleimhaut mäßig zahlreiche rauchgraue Flecke. Über der rechten Lungenspitze, vorwiegend in der Fossa supraclavicularis, leichte relative Dämpfung. Auskultatorisch findet sich hier an Intensität wechselndes feinblasiges Rasseln. Das Atmungsgeräusch ist über beiden Spitzen verschärft. Herzgrenzen an normaler Stelle; die Töne sind rein. Puls 80 in der Minute, etwas weich. Der Blutdruck, geschätzt mit dem Recklinghausenschen Tonometer, beträgt maximal 140, minimal 105 cm Wasser. Die Abdominalorgane sind ohne Besonderheit. Reflexe normal. Im Urin weder Eiweiß noch Zucker nachzuweisen. Stuhl breiig, ohne Schleimbeimengung. Gewicht 61,1 kg. Die Blutuntersuchung ergab einen Hämoglobingehalt von 90% nach Sahli. Die Zahl der Roten betrug 6,2 Millionen, die der Weißen 8200. Mikroskopisch ließ sich eine geringe Anisocytose feststellen.

Auf eine probatorische Tuberkulininjektion trat eine deutliche Steigerung der Pulszahl auf; die Temperatur war am zweiten Tage um 0,3° erhöht. Gleichzeitig bestanden aber ausgesprochene Störungen des Allgemeinbefindens, Prostration, Appetitlosigkeit in den ersten zwei Tagen nach der Injektion.

Sonst während der ganzen Beobachtungszeit vollkommenes Wohlbefinden, gute Nahrungsaufnahme. Nur am 17. VII. einmaliges Erbrechen beim Versuche, eine kochsalzfreie Diät einzuführen. Der Stuhl, der anfangs normal war, wurde im weiteren Verlaufe leicht diarrhoisch und machte einmal den Eindruck eines Gärungsdyspepsiestuhls. Indessen verschwanden diese Erscheinungen wieder in den letzten Tagen der Beobachtung.

Der Patient wurde subjektiv etwas gebessert entlassen; Gewicht am Schlusse der Beobachtung: 62,9 kg.

Der Gang der Untersuchung war folgender: Patient erhielt während der ganzen Versuchsperiode inklusive einer 4tägigen Vorperiode (nicht in die Tabellen aufgenommen!) eine leicht modifizierte Schmidtsche Probekost, deren Zusammensetzung wir unten folgen lassen. Nach einer 3tägigen Beobachtung des Stoffwechsels unter dieser Ernährung gaben wir dem Patienten während der folgenden 6 Tage Nebennierentabletten, 3 Tage lang täglich 2, 3 weitere Tage 3 Tabletten des Merckschen Präparates à 0,1. Nach Absetzung dieser Tabletten folgte, bei stets gleich bleibender Kost, eine Nachperiode von 3 Tagen. Am dritten Tage der Nebennierenperiode machten wir den Versuch, den Patienten auf kochsalzfreie Diät zu setzen. Dies erwies sich als undurchführbar, da Patient sofort zu erbrechen begann. Infolgedessen wurde die ursprüngliche Kost weiter gereicht.

Leider war es uns aus äußeren Gründen unmöglich, die Nahrung jeweils speziell zu analysieren. Es mußten daher zur Berechnung Mittelwerte aus den Königschen Tabellen eingesetzt werden.

Einnahmen pro Tag.

	Ges.-N	P_2O_5	Ca	Fett	Calor.
125,0 Schinken . .	4,75	0,6	0,07	45,9	550
125,0 Rindfleisch .	3,75	0,86	0,02	7,5	180
2 Eier	2,0	0,29	0,047	9,6	143
200,0 Weißbrot . .	2,2	0,27	0,023	—	580
40,0 Reis	0,48	0,07	0,005	—	140
80,0 Butter . . .	0,08	0,54	0,2	66,2	620
200,0 Kartoffelbrei	1,0	0,2	0,12	13,0	315
1 l Milch	5,0	1,89	1,14	36,0	671
	19,26	4,72	1,63	178,2	3199

Im Urin wurden folgende Ausgaben bestimmt:
Gesamtstickstoff nach Kjeldahl;
Harnsäure nach Ludwig-Salkowski;
Kochsalz nach Volhard-Falck-Arnold;
Phosphorsäure mit Uranylacetat;
Calcium aus Neumannscher Asche gravimetrisch;
Sulfatschwefel nach Baumann;
Ätherschwefel nach Salkowski;
Neutralschwefel (aus Gesamtschwefel nach Soda-Natronsalpeter-Veraschung).

Nachstehend die Ergebnisse der Analysen:

Ausgaben: Urin.

Datum: Juli 09	Urinmenge	Gesamt-N	Harnsäure		NaCl	P_2O_5	Ca	Schwefel (SO_3)				
			N-Gehalt	in g				Gesamt-	Sulfat-	Äther-	Neutral-	
12.-13.	1770	17,54	0,14	0,42	16,57	2,5	0,34	3,28	—	—	0,56	Gew. 61,10 kg
13.-14.	2180	17,95	0,08	0,24	25,65	2,6	0,30	—	—	—	—	I. Periode
14.-15.	1520	14,30	0,09	0,27	19,74	2,3	0,29	2,76	2,41	0,21	0,14	
15.-16.	1600	12,59	0,09	0,27	20,22	2,3	0,30	2,77	2,23	0,27	0,27	
16.-17.	1640	13,18	0,09	0,27	22,45	2,3	—	—	—	—	—	
17.-18.	1230	14,05	0,13	0,39	*7,63	3,0	0,31	3,28	2,75	0,18	0,35	II. Periode
18.-19.	1730	15,50	0,15	0,45	11,94	2,3	0,34	3,59	2,67	0,17	0,75	(Nebennieren-
19.-20.	1220	15,03	0,18	0,54	12,70	2,5	0,40	3,44	2,89	0,15	0,40	tabl.)
20.-21.	1920	14,82	0,16	0,48	16,62	2,5	0,31	3,59	2,61	0,28	0,70	
21.-22.	1850	14,40	0,13	0,39	12,99	2,7	0,44	3,47	2,74	0,17	0,56	
22.-23.	1490	11,39	0,15	0,45	13,08	1,9	0,37	3,03	2,13	0,17	0,73	III. Periode
23.-24.	1570	13,98	0,14	0,42	13,56	3,0	0,33	—	2,5	0,25	—	Gew. 62,9 kg

* Versuch mit kochsalzfreier Kost.

In dem durch Carmingaben jeweils abgegrenzten Kot wurden folgende Bestimmungen ausgeführt:

Gesamtstickstoff nach Kjeldahl;

Phosphorsäure unter Veraschung nach Neumann mit Uranylacetat;

Chlor unter trockner Veraschung (Soda-Natronsalpeter) nach Volhard-Falck-Arnold;

Calcium aus Neumannscher Asche gravimetrisch;

Neutralfett und Fettsäuren im Ätherextrakt mittels Wägung und Titration.

Die durchschnittlichen Tageswerte sind aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tägliche Ausgaben: Kot.

Periode	Trocken-gewicht	Gesamt-N	P_2O_5	NaCl	Ca	Neutral-fett	Fett-säuren
I.	27,7	1,83	1,9	0,08	1,19	6,2	2,9
II.	32,5	1,93	2,2	0,06	1,32	6,2	3,0
III.	34,3	2,28	2,1	0,12	1,38	6,4	4,2

Daraus erhalten wir für die einzelnen Perioden als Bilanz von N, P_2O_5 und Ca:

Bilanz.

I. Periode (3 Tage).

	Gesamt-Stickstoff			Phosphorsäure			Calcium		
	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe
Einnahmen			57,78			14,2			4,89
Ausgaben	49,79	5,49	55,28	7,4	5,7	13,1	0,93	3,57	4,50
Bilanz			+ 2,5			+ 1,1			+ 0,39

II. Periode (6 Tage).

	Gesamt-Stickstoff			Phosphorsäure			Calcium		
	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe
Einnahmen			115,56			28,3			9,78
Ausgaben	85,17	11,58	96,75	14,9	13,2	28,1	1,99[1]	7,92	9,91
Bilanz			+ 18,81			+ 0,2			− 0,13

[1]) Am 16./17. ist ein Mittelwert eingesetzt.

III. Periode (3 Tage).

	Gesamt-Stickstoff			Phosphorsäure			Calcium		
	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe
Einnahmen			57,78			14,2			4,89
Ausgaben	39,77	6,84	46,61	7,6	6,3	13,9	1,14	4,14	5,28
Bilanz			+ 11,17			+ 0,3			– 0,39

Gesamtversuch (12 Tage).

	Gesamt-Stickstoff			Phosphorsäure			Calcium		
	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe	Urin	Kot	Summe
Einnahmen			231,12			56,7			19,56
Ausgaben	174,73	23,91	198,64	29,9	25,2	55,1	4,06	15,63	19,69
Bilanz			+ 32,48			+ 1,6			– 0,13

Die folgende Tabelle gibt die prozentuale Verteilung der N-, P_2O_5- und Ca-Ausscheidung auf Urin und Kot wieder:

	Gesamt-Stickstoff		Phosphorsäure		Calcium	
	Urin	Kot	Urin	Kot	Urin	Kot
I. Periode . .	89	11	57	43	21	79
II. „ . .	86	14	53	47	20	80
III. „ . .	83	17	53	47	22	78

Im einzelnen geht aus den vorstehenden Tabellen hervor:

Die Harnmenge ist nicht vermindert; sie entspricht der Flüssigkeitsaufnahme.

Die Stickstoffbilanz schließt ab mit einer Retention von 32,48 g Stickstoff. Die gleichzeitig retinierten 1,6 g Phosphorsäure gestatten die Bildung von 343 g Muskeleiweiß anzunehmen. Dem entspricht eine Gewichtszunahme von 1,8 kg. Der verbleibende Rest von 20,8 g N kann als Reserveeiweiß aufgefaßt werden. Was die Verteilung der N-Ausscheidung auf Kot und Urin betrifft, so ist in der II., besonders deutlich aber in der III. Periode die Ausfuhr durch den Kot vermehrt. Dies dürfte wohl mit der zu jener Zeit einsetzenden, leicht diarrhoischen Beschaffenheit des Stuhls zusammenhängen, und, zum Teil mindestens, durch Vermehrung der Darmbakterien zu erklären sein.

Die Harnsäureausscheidung verhält sich normal; insbesondere ist bei Zufuhr von Nebennierentabletten keine Steigerung zu konstatieren, wie sie von Eiselt beschrieben wird.

Über den Kochsalzstoffwechsel können wir nichts Sicheres aussagen, da genaue Nahrungsanalysen fehlen; jedenfalls aber zeigt er keine gröberen Abweichungen von der Norm.

Die Phosphorsäureausscheidung ist vollkommen normal und weist durch alle Perioden nur geringfügige Schwankungen auf. Der etwas hohe prozentische Anteil des Kotes an der Phosphorsäureausscheidung (43 bis 47 %) liegt nach den Untersuchungen von Oeri[1]) noch innerhalb der Grenzen der Norm. Die Bilanz haben wir schon im Zusammenhang mit der Stickstoffretention abgehandelt.

Beim Calciumstoffwechsel haben wir eine Mehrausscheidung von 0,13 Ca berechnet. Da die Nahrungszahlen für Ca nicht Analysen, sondern tabellarischen Mittelwerten entstammen, so dürfte aus diesem geringen Verlust (0,01 g pro Tag!) kein Schluß gezogen werden. So viel ist trotzdem sicher, daß unter der Nebennierendarreichung keine Kalkretention zustande kam, wie sie Stöltzner bei der Adrenalinbehandlung der Rachitis mitgeteilt hat. Die Kalkausscheidung mit dem Kote ist (80 % des Gesamtkalkes) etwas hoch. Doch dürfte auch dieser Wert bei Milchnahrung noch als normal betrachtet werden [Oeri[1])].

Was die Schwefelausscheidung betrifft, so zeigen Sulfatschwefel und Ätherschwefelsäuren normale Werte. Etwas hoch ist dagegen an den meisten Tagen der Neutralschwefel, ohne daß indessen die obere Grenze der Normalwerte (25 %) überschritten wird. Eiselt (l. c.) hat ausgesprochene Steigerung des Neutralschwefels beobachtet. Eine Zunahme des Neutralschwefels unter Adrenalindarreichung, wie sie Eiselts 2. Fall aufweist, können wir nicht mit Sicherheit konstatieren, wenn auch in unserem Falle die höchsten Werte in die Periode mit Nebennierendarreichung und in die Nachperiode fallen.

Der Fettverlust im Kote zeigt ungefähr normale Werte; vielleicht sind diese in der letzten Periode etwas hoch. Einer täglichen Aufnahme von ca. 180 g Fett steht ein Fettverlust von ca. 12 g gegenüber (die nicht bestimmten Seifen sind ungefähr gleich den Fettsäuren geschätzt), in der 3. Periode

---

[1]) Oeri, Ein Beitrag zur Kenntnis des Phosphorsäure- und Kalkstoffwechsels beim erwachsenen gesunden Menschen. Zeitschr. f. klin. Med. 67, 288, 1909.

ca. 15 g Fettverlust. Auffallend ist dabei die große Menge Neutralfett; über die Ursache dieser mangelhaften Fettspaltung vermögen wir nichts anzugeben.

Zusammenfassung.

Bei diesem Fall von beginnendem Morbus Addisonii konnten wir folgendes feststellen:

1. Es bestand keine wesentliche Abweichung des Stoffwechsels von der Norm.
2. Bei reichlicher Ernährung hat der Patient Stickstoff retiniert.
3. Darreichung von Nebennierentabletten war ohne Einfluß auf die Stoffwechselvorgänge.

Die Alkoholoxydase in den Tiergeweben.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 7. August 1910.)

Mit 3 Figuren im Text.

I.

Als Alkoholoxydase haben wir ein besonderes, hauptsächlich in der Leber verschiedener Tierarten vorkommendes Ferment bezeichnet, das unter Aufnahme molekularen Sauerstoffs Äthylalkohol zu Aldehyd und hernach zu Essigsäure oxydiert.

In einigen vorläufigen Mitteilungen hatten wir dieses Ferment Alkoholase[1]) genannt, aber wir glauben, daß es besser sei, daß die Bezeichnung zugleich darauf hinweist, daß es sich um ein oxydierendes Ferment handelt. Übrigens ist die Bezeichnung Alkoholoxydase von Buchner und Gaunt[2]) für das Alkohol oxydierende Ferment der Micoderma aceti bereits gebraucht worden.

Die Gewebe, die den Äthylalkohol oxydieren, können auch andere Alkohole und einige Aldehyde oxydieren, so daß die Vermutung nahe liegt, daß all diese Oxydationen durch ein und dasselbe Ferment bedingt seien. Immerhin ist die Oxydation des Äthylalkohols viel energischer als die der anderen Alkohole oder Aldehyde, weswegen es angezeigt erscheint, als Typus die Oxydation des Äthylalkohols zu wählen.

---

[1]) Battelli und Stern, L'alcoolase dans les tissus animaux. Soc. de Biol. 67, 419, 1909.

[2]) Buchner und Gaunt, Über die Essiggärung. Liebigs Annalen d. Chem. 349, 140, 1906.

Das Studium der Zerstörung des Alkohols im lebenden Organismus soll hier nicht berücksichtigt werden, da es zur Aufklärung des Mechanismus der Zerstörung des Alkohols nichts beigetragen hat.

Die fermentative Oxydation der Alkohole und der Aldehyde der aliphatischen Reihe ist Gegenstand nur weniger Untersuchungen gewesen. Übrigens ist die Realität dieser Oxydation bisher nicht zweifellos bewiesen worden.

Betreffend die Oydation der Alkohole liegen bloß die Versuche von Pohl[1]) vor, der die Oxydation des Methylalkohols und des Formaldehyds durch die überlebenden Gewebe (Hundemuskel und Leber, Pferde- und Rinderleber, Rinderniere und Pferdelunge) untersucht hat. Die zerriebenen Gewebe werden mit einer Lösung der zu untersuchenden Substanz in physiologischer Kochsalzlösung durchgerührt und 3 bis 4 Stunden im Thermostat bei 37° bis 39° digeriert. Bemerkenswert ist, daß Pohl keinerlei Angaben macht, ob das Reaktionsgemisch einem Luftstrome ausgesetzt wurde, oder durch häufiges Schütteln der Sauerstoffzutritt aktiviert wurde. Die von Pohl mitgeteilten Versuchsergebnisse weisen nur in einem Falle eine merkbare Oxydation des Methylalkohols durch die Rinderleber auf. In all den anderen Versuchen ist die Steigerung der Ameisensäurebildung sehr gering. Pohl selbst bemerkt: „Minder deutlich, bis auf Versuch 27, ist die Oxydation des Methylalkohols, doch spricht die Tatsache, daß in allen Fällen ein Plus bei Anwesenheit desselben gefunden wurde, daß ferner in den meisten Versuchen dieses Plus außerhalb der Fehlergrenzen liegt, dafür, daß auch Methylalkohol von den Zellen überlebender Organe angegriffen werden kann.“ Diese ungünstigen Resultate dürften in den Versuchen Pohls dem Umstande zuzuschreiben sein, daß die Berührung des Reaktionsgemisches mit dem Sauerstoff ungenügend war. Wir werden in der Tat sehen, daß die Oxydation des Methylalkohols durch die Leber mehrerer Tierarten ziemlich energisch sein kann.

Im Laufe unserer Untersuchungen über die Atmung der Tiergewebe[2]) hatten wir bereits die Beobachtung gemacht, daß

[1]) Pohl, Über die Oxydation des Methyl- und Äthylalkohols im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. u. Pkarmakol. 31, 281, 1893.

[2]) Battelli u. Stern, Action de quelques substances sur l'activité respiratoire des tissus isolés. Journ. de Physiol. et Pathol. géner. 1907, 228.

Äthylalkohol und Ameisensäure die Sauerstoffaufnahme durch die Leber mehrerer Tierarten steigern, aber wir hatten daraus auf keine Fermenttätigkeit geschlossen.

In bezug auf die Aldehyde der Fettreihe sind die Versuche von Pohl[1]) zu erwähnen, der die Bildung von Ameisensäure aus Formaldehyd beobachtete. Die Ameisensäurebildung war recht deutlich, wenn Lebergewebe gebraucht wurde. Doch kann von einer Oxydation in diesen Versuchen kaum die Rede sein. Wie wir in einer früheren Arbeit[2]) gezeigt haben, besitzt die Leber die Fähigkeit, Aldehyde in die entsprechenden Alkohole und Säuren zu zersetzen, namentlich, wenn die Konzentration des Aldehyds etwas größer ist (0,5 bis 1:100 z. B.), wie es in den Versuchen von Pohl der Fall ist. Die Aldehydase ist kein oxydierendes Ferment, sondern ein hydrolysierendes Enzym. In den Versuchen von Pohl muß die Bildung von Ameisensäure aus Formaldehyd der Aldehydase zugeschrieben werden. Es handelte sich hier nicht um eine Oxydation, sondern um einen hydrolytischen Vorgang.

Cervello und Pitini[3]) haben keine Umwandlung des Formaldehyds zu Ameisensäure durch überlebende Gewebe konstatieren können.

Zu den Alkoholen und Aldehyden der aromatischen Reihe übergehend, sind vor allem die Arbeiten von Schmiedeberg und von Jaquet zu nennen. Schmiedeberg[4]) fand, daß das Blut sowie die künstlich durchbluteten Organe die Fähigkeit besitzen, Benzylalkohol zu Benzoesäure und Salicylaldehyd zu Salicylsäure zu oxydieren. Jaquet[5]) hat die Untersuchungen von Schmiedeberg bestätigt und erweitert, doch bedient er sich in der Mehrzahl der Versuche des Salicylaldehyds als der zu oxydierenden Substanz. Die zahlreichen Forscher, die diese Untersuchungen wieder aufgenommen haben (Abelous und Biarnès, Salkowski, Jacoby, Medwedew u. a.), haben stets Salicylaldehyd zu ihren Versuchen benutzt. Jacoby[6]) nennt das Ferment, das die Fähigkeit besitzt, Salicylaldehyd in Salicylsäure umzuwandeln, Aldehydase. Die Aldehydase wird von Jacoby und allen anderen Forschern zu den oxydierenden Fermenten gerechnet; wir

---

[1]) Pohl, l. c.

[2]) Battelli und Stern, Dédoublement de l'aldéhyde éthylique en acide et alcool par les tissus animaux. Soc. de Biol. 68, 742, 1910.

[3]) Cervello und Pitini, Sull' ossidabilità delle aldeide e specialmente della formica. Archivio di farmacol. e terapeut. 13, 1, 1907.

[4]) Schmiedeberg, Über Oxydationen und Synthesen im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14, 288, 1881.

[5]) Jaquet, Über die Bedingungen der Oxydationsvorgänge in den Geweben. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 29, 386, 1891.

[6]) Jacoby, Über das Aldehyde oxydierende Ferment der Leber und Nebenniere. Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 135, 1900.

haben aber gezeigt,[1]) daß diese Auffassung falsch ist und daß die Aldehydase ein hydrolysierendes Ferment ist. Salicylaldehyd wird durch mehrere Tiergewebe in Saligenin und Salicylsäure gespalten. Die Aldehydase ist somit völlig verschieden von der Alkoholoxydase, und wir wollen uns in vorstehender Arbeit nicht weiter damit beschäftigen.

Buchner und Gaunt[2]) haben den Beweis erbracht, daß die Oxydation des Alkohols zu Essigsäure durch Micoderma aceti der Wirkung eines besonderen Fermentes, der Alkoholoxydase, zuzuschreiben sei. Rothenbach und Hoffmann[3]) haben nicht entscheiden können, ob die Alkoholoxydase aus einer Verbindung von Peroxydase und Peroxyd nach der Theorie von Bach und Chodat bestehe. Durch Hinzufügen von Wasserstoffsuperoxyd zum durch Acetonbehandlung geschwächten Ferment wird die Oxydationswirkung nicht gesteigert.

II. Methode.

Die Versuchsanordnung ist im allgemeinen die gleiche, wie wir sie früher beim Studium der Gewebeatmung angewandt hatten. Die zu untersuchenden Gewebe werden schnell mit Hilfe einer feinlöcherigen Fleischhackmaschine fein zerrieben und darauf mit Wasser versetzt, so daß ein flüssiges Gemenge entsteht (120 ccm Wasser zu je 40 g Gewebe z. B.). Das Ganze wird in eine größere Flasche gebracht und in Gegenwart von Sauerstoff bei 38 bis 40° energisch geschüttelt.

In den vorliegenden Versuchen wurde die Wirkung der Alkoholoxydase in der Weise untersucht, daß man den Einfluß des dem Reaktionsgemisch zugefügten Alkohols auf die Gewebeatmung bestimmte.

Das Vorhandensein der Alkoholoxydase in einem Gewebe kann auf vielerlei Art bestimmt werden: 1. Durch Messung des aufgenommenen Sauerstoffs; 2. durch direkte Messung des Alkohols; 3. durch die Bildung von Acetaldehyd und 4. durch Messung der flüchtigen Säuren.

Die Bestimmung des aufgenommenen Sauerstoffs wird nach den üblichen Methoden ausgeführt. Ist die Sauerstoffaufnahme in dem Alkohol enthaltenden Reaktionsgemisch stärker als in der Kontrollprobe, so schließt man daraus auf das Vorhandensein von Alkoholoxydase in dem betreffenden Gewebe.

Wir hatten bereits früher darauf hingewiesen, daß der Alkohol keinen merkbaren Einfluß auf die Kohlensäurebildung ausübt; gewöhnlich bemerkt man eine geringe Verminderung.

---

[1]) Battelli u. Stern, Dédoublement de l'aldéhyde salicylique en acide salicylique et en saligénine par les tissus animaux. Soc. de Biol. 69, 162, 1910.

[2]) Buchner und Gaunt, l. c.

[3]) Rothenbach und Hoffmann, Untersuchungen über die näheren Eigenschaften der Alkoholoxydase. Deutsche Essigindustrie, 9, Nr. 6, 1908.

Die quantitative Bestimmung des Alkohols wurde nach dem Verfahren von Nicloux[1]) ausgeführt. Dieses Verfahren besteht in der Reduktion des Kaliumbichromats durch Alkohol in Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure. Das Reaktionsgemisch wird mit Pikrinsäure destilliert und das Destillat auf Alkohol untersucht. Wird am Ende des Versuches der gesamte Alkohol, der dem Gewebebrei zugesetzt worden, wiedergefunden, so ist dies ein Beweis, daß das betreffende Gewebe keine Alkoholoxydase enthält. Ist aber ein Teil des hinzugefügten Alkohols verschwunden, so kann man mit einigem Vorbehalt auf das Vorhandensein von Alkoholoxydase schließen.

Um zu entscheiden, ob eine Bildung von Aldehyd stattgefunden, wird das Reaktionsgemisch mit Pikrinsäure destilliert und das Destillat mit Hilfe der charakteristischen Reaktionen auf Aldehyd untersucht: Reduktion von Silbernitrat, Reaktion von Schiff, Jodoformreaktion usw. Das Auftreten von Aldehyd deutet mit Bestimmtheit auf das Vorhandensein von Alkoholoxydase hin; dagegen spricht das Ausbleiben einer positiven Aldehydreaktion nicht gegen die Oxydation des Alkohols. In der Tat ist oft beobachtet worden, daß der Alkohol oxydiert wurde, ohne daß im Destillate Aldehyd nachgewiesen werden konnte, sei es daß der Aldehyd weiter zu Essigsäure oxydiert worden, sei es, daß er infolge synthetischer Vorgänge verschwunden war. Der Aldehydnachweis kann also nicht in allen Fällen zur Anwendung kommen, wo es sich darum handelt, ein Gewebe auf das Vorhandensein von Alkoholoxydase zu untersuchen.

Zur quantitativen Bestimmung der flüchtigen Säuren wird folgendes Verfahren benutzt. Das Reaktionsgemisch wird zum Sieden gebracht, durch Leinwand filtriert, und der Rückstand mehrere Male gewaschen. Die gesamte Flüssigkeit wird mit Phosphorsäure versetzt und so lange destilliert, bis das Destillat keine saure Reaktion mehr aufweist. Ein Teil der Säure des Destillats ist auf Rechnung der Milchsäure zu setzen, die durch die Wasserdämpfe mitgerissen wird. Die auf diese Weise mitgerissene Milchsäuremenge nimmt mit zunehmender Konzentration der Flüssigkeit zu. Das Destillat wird durch nochmaliges Destillieren von der Milchsäure befreit und die Säure des zweiten Destillats durch dezinormale NaOH-Lösung titriert. Ist die Menge der flüchtigen Säuren durch Hinzufügen von Alkohol vergrößert, so kann daraus auf das Vorhandensein von Alkoholoxydase geschlossen werden.

Die quantitative Bestimmung der Alkoholoxydase kann durch Messung des aufgenommenen Sauerstoffs oder durch Bestimmung des verschwundenen Alkohols geschehen. Die Werte, die mit Hilfe dieser beiden Methoden erhalten werden, stimmen in den meisten Fällen recht gut überein. Doch zeigt häufig die direkte Bestimmung des verschwundenen Alkohols größere Werte an, als die Steigerung der Sauerstoffaufnahme es voraussehen läßt. Die Messung der flüchtigen Säuren kann

[1]) Nicloux, Simplification de la méthode de dosage de l'alcoo dans le sang et les tissus. Soc. de Biol. 58, 1034, 1906.

zu quantitativen Bestimmungen der Alkoholoxydase eines Organs nicht benutzt werden, sei es, daß ein Teil des Alkohols nur zu Aldehyd oxydiert ist, sei es, daß ein Teil der gebildeten Essigsäure wieder verschwindet.

Bei der Berechnung des verschwundenen Alkohols durch die Bichromatmethode muß auch die vorhandene Aldehydmenge in Betracht gezogen werden, da das Bichromat ebenfalls durch Aldehyd reduziert wird. Die Aldehydmenge wird colorimetrisch mit Hilfe der Reaktion von Schiff (Violettfärbung einer durch schweflige Säure entfärbten Fuchsinlösung) oder der Reaktion von Legal (Rotfärbung einer Natriumnitroprussidlösung) bestimmt.

Die einfachste Methode der quantitativen Bestimmung der Alkoholoxydase ist folglich die Messung des absorbierten Sauerstoffs. Dieses Verfahren bietet zugleich den Vorteil, daß der Reaktionsverlauf beständig verfolgt werden kann. Zu dem Zweck wird jede Flasche mit einem als Eudiometer funktionierenden Manometer in Verbindung gebracht. Dasselbe kann auch mit einem Registrierapparat verbunden werden. In dem Falle muß darauf geachtet werden, daß das Reaktionsgemisch genügend alkalisch sei, um die durch die Gewebeatmung entwickelte Kohlensäure zu binden. Zur Alkalinisierung wird NH_3 verwandt. Wie wir später sehen werden, ist ein gewisser Alkalinitätsgrad für die Wirkung der Alkoholoxydase nicht schädlich.

Um aus der Sauerstoffaufnahme die Menge des oxydierten Alkohols zu berechnen, genügt es in Erwägung zu ziehen, daß 1 g Alkohol, um zu Essigsäure oxydiert zu werden, 0,695 g Sauerstoff, d. h. 486 ccm O_2 verbraucht. Folglich entspricht eine Sauerstoffaufnahmesteigerung von 100 ccm einer Oxydation von 0,205 g Alkohol zu Essigsäure. Doch darf nicht vergessen werden, daß ein Teil des Alkohols nur zu Aldehyd oxydiert werden könnte.

Dieses soeben beschriebene Verfahren gibt gute Resultate, wenn das Gewebe reich an Alkoholoxydase ist. Wenn es sich aber um Gewebe handelt, die nur wenig Alkoholoxydase besitzen, ist dieses Verfahren ungeeignet, nicht nur um quantitative Bestimmungen auszuführen, sondern selbst um zu entscheiden, ob das betreffende Gewebe überhaupt dieses Ferment enthält. In der Tat können geringe Alkoholmengen oxydiert werden, ohne eine merkliche Steigerung der Sauerstoffaufnahme hervorzurufen, denn der Alkohol könnte an Stelle irgend einer anderen Substanz oxydiert worden sein.

Die Methode der quantitativen Bestimmung der Alkoholoxydase durch direkte Messung des oxydierten Alkohols ist genauer als die soeben beschriebene, namentlich wenn es sich um Gewebe handelt, die nur geringe Mengen dieses Ferments enthalten. Der größeren Präzision wegen werden dem Gewebe nur geringe Mengen Alkohol hinzugefügt, so daß das Verhältnis des oxydierten Alkohols zum zurückgebliebenen recht groß ist. Immerhin ist nicht zu vergessen, daß das bloße Verschwinden des Alkohols nicht genügt, um das Vorhandensein der Alkoholoxydase zweifellos zu beweisen. Der Alkohol könnte auch auf andere

Weise verschwinden, z. B. durch richtige Verbrennung unter Bildung von Kohlensäure und Wasser. In letzterem Falle würde aber weder Aldehydbildung noch Steigerung der flüchtigen Säuren auftreten.

Aus dem bisher Gesagten folgt, daß sowohl die qualitative als die quantitative Bestimmung der Alkoholoxydase ziemlich schwierig ist, wenn es sich um Gewebe handelt, die sehr geringe Mengen dieses Fermentes aufweisen. In dem Falle muß man große Gewichtsmengen des betreffenden Gewebes benutzen, damit die Steigerung der flüchtigen Säuren deutlicher zutage tritt. Aber trotz dieser Vorsichtsmaßregeln bleibt es oft unentschieden, ob ein gegebenes Gewebe Alkoholoxydase enthält oder nicht.

Mehrere Faktoren üben einen Einfluß auf die Oxydation des Alkohols durch die Alkoholoxydase aus. Diese Faktoren müssen in den Versuchen konstant gehalten werden, wenn man untereinander vergleichbare Resultate erhalten will.

Die Menge des oxydierten Alkohols hängt natürlich von der Dauer des Versuches ab. In der größten Zahl der Versuche ist das Reaktionsgemisch 1 Stunde lang geschüttelt worden.

Die Menge des angewandten zerriebenen Gewebes betrug in der Mehrzahl der Versuche 40 g. Die Flüssigkeitsmenge betrug 120 ccm. Die Suspensionsflüssigkeit bestand häufig aus einer 0,05%igen Ammoniaklösung, wobei die 40 g Gewebe als äquivalent 40 ccm Flüssigkeit betrachtet wurden. Die Menge des hinzugefügten Alkohols betrug gewöhnlich 0,20 g.

Die Temperatur des Thermostaten betrug 38 bis 40°.

Bei den Untersuchungen über die Alkoholoxydase eines gegebenen Gewebes empfiehlt es sich, das Gewebe mehrere Stunden nach dem Tode des Tieres zu verwenden. Unter diesen Bedingungen haben alle Gewebe, mit Ausnahme der Muskeln, die Hauptatmung bereits verloren. Die Hauptatmung könnte insofern störend eingreifen, als durch sie eventuell der Alkohol zu Wasser und Kohlensäure verbrannt werden könnte. Immerhin haben wir in unseren Versuchen bisher eine Verbrennung des Alkohols durch die Muskeln der verschiedenen Tiere, selbst sofort nach dem Tode des Tieres, zu einer Zeit also, wo die Hauptatmung am intensivsten war, nicht wahrnehmen können. Der hinzugefügte Alkohol wurde am Ende des Versuches total wiedergefunden.

Die Alkoholoxydase bleibt in den Geweben längere Zeit nach dem Tode des Tieres intakt (1 bis 2 Tage), vorausgesetzt, daß die Gewebe vor Fäulnis geschützt seien. Es ist also nicht notwendig, äußerst frische Gewebe zu benutzen.

III. Der Alkoholoxydasegehalt der verschiedenen Gewebe.

Mit Hilfe der oben beschriebenen Methoden haben wir den Gehalt an Alkoholoxydase in den verschiedenen Tiergeweben zu bestimmen versucht. Die Gewebe wurden teils aus dem Schlachthofe bezogen, teils stammten sie von im Laboratorium durch Verbluten getöteten Tieren. Wie wir bereits gesagt haben, wurden die Gewebe erst mehrere Stunden

nach dem Tode des Tieres verwandt. Die menschlichen Gewebe entstammten zufällig verstorbenen normalen Individuen, deren Autopsie 24 Stunden nach dem Tode gemacht worden war.

In all diesen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns 1 Stunde und die Temperatur des Thermostaten 40° ungefähr.

Im allgemeinen können die Gewebe in zwei Kategorien eingeteilt werden: solche, die an Alkoholoxydase reich sind, und solche, die nur wenig oder gar keine Alkoholoxydase aufweisen. In den ersteren kann die Alkoholoxydasemenge direkt durch die Steigerung der Sauerstoffaufnahme bestimmt werden. In den anderen Geweben hingegen muß der verschwundene Alkohol direkt oder indirekt gemessen werden, um zu entscheiden, ob und wieviel sie Alkoholoxydase enthalten.

In der nun folgenden Tabelle I sind die Durchschnittswerte der aus der Steigerung der Sauerstoffaufnahme berechneten Alkoholoxydasemengen der an diesem Ferment reichen Gewebe zusammengestellt. Jede Zahl entspricht einem Durchschnittswerte von mindestens 5 Versuchen, d. h. die betreffenden Gewebe wurden an 5 verschiedenen Individuen derselben Tiergattung untersucht. Wir lassen die Kohlensäurewerte beiseite, da, wie wir gesehen haben, der Alkohol keinen merkbaren Einfluß auf die Bildung dieses Gases ausübt. Die alkalische Reaktion wurde durch Ammoniak in einer Konzentration von 0,05:100 erzielt.

Tabelle I.

Durchschnittswerte der Sauerstoffabsorption durch 100 g Gewebe mit oder ohne Alkohol. In all diesen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns 1 Stunde und die Temperatur des Thermostaten 40°. Der Alkohol wurde nach der Methode von Nicloux bestimmt. Bei der Berechnung der oxydierten Alkoholmenge wurde angenommen, daß der Alkohol zu Essigsäure oxydiert worden war.

Gewebe	Hinzugesetzter Alkohol g	Aufgenommener O_2 ccm	Verschwundener Alkohol g
Leber von Pferd	00	56	
idem	0,50	107	0,14
Leber von Hammel	00	60	
idem	0,50	99	0,11
Leber von Rind	00	54	
idem	0,50	85	0,09
Leber von Meerschweinchen . .	00	47	
idem	0,50	72	0,07
Leber von Hund	00	49	
idem	0,50	65	0,045
Leber von Kaninchen	00	42	
idem	0,50	55	0,04
Leber von Mensch	00	37	
idem	0,50	47	0,03
Niere von Pferd	00	34	
idem	0,50	43	0,03

Wenn wir mit 100 die Oxydation des Alkohols durch die Pferdeleber bezeichnen, kann der Alkoholoxydasegehalt der anderen Gewebe graphisch wie folgt dargestellt werden.

Fig. 1.

Wie bereits gesagt worden, stellen die angeführten Werte Durchschnittszahlen dar. Die individuellen Abweichungen sind sehr groß. So betrug die minimale Steigerung der Sauerstoffabsorption für 100 g Pferdeleber 24 ccm und die maximale 79 ccm.

In bezug auf die anderen Gewebe ist es schwer zu entscheiden, ob sie überhaupt Alkoholoxydase enthalten. Man konstatiert nach Hinzufügen von Alkohol keine merkliche Steigerung in der Sauerstoffabsorption, und die Menge des direkt bestimmten verschwundenen Alkohols beträgt für 100 g Gewebe kaum mehr als 0,01 g.

Wir haben zu dem Zweck die folgenden Gewebe untersucht: die Niere von Mensch, Hund und Rind, die Milz von Mensch, Pferd und Hammel, die Lunge von Mensch und Pferd, den Pankreas von Pferd, das Gehirn von Hammel und Hund, die Muskeln von Mensch, Hund, Pferd und Rind. Das Blut der verschiedenen Tiere, die daraufhin untersucht wurden, weist keine merklichen Alkoholoxydasemengen auf.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die menschlichen Gewebe äußerst wenig Alkoholoxydase aufweisen. Man hätte vielmehr erwarten können, beim Menschen infolge der Gewöhnung an Alkoholgenuß größere Mengen des Alkohol oxydierenden Ferments anzutreffen als bei den übrigen Tieren. Wir werden übrigens sehen, daß beim Hunde die Gewöhnung an Alkohol keine Steigerung des Alkoholoxydasegehalts der verschiedenen Gewebe hervorruft.

In den Versuchen an menschlichen Geweben darf nicht außer acht gelassen werden, daß die Gewebe bisweilen mehr oder weniger Alkohol enthalten, der vom genossenen Alkohol stammt. Bei der Berechnung der verschwundenen Alkoholmenge muß natürlich der präexistierende Alkohol in Betracht gezogen werden.

IV. Der Alkohol wird durch die Hauptatmung nicht angegriffen.

In einer früheren Arbeit[1]) haben wir in der Atmung der Gewebe zweierlei Vorgänge unterschieden: die Hauptatmung und die akzessorische Atmung. Die Hauptatmung scheint an das Leben der Zellen gebunden zu sein und verschwindet je nach den Geweben mehr oder minder schnell nach dem Tode. Die akzessorische Atmung scheint hingegen einen fermentativen Charakter zu besitzen. Die fermentative Oxydation des Alkohols und der Harnsäure ist ein Spezialfall der akzessorischen Atmung.

---

[1]) Battelli und Stern, Die akzessorische Atmung in den Tiergeweben. Diese Zeitschr. 21, 487, 1909.

Wir haben Versuche angestellt, um zu entscheiden, ob der Alkohol durch die Hauptatmung oxydiert wird. Zu dem Zweck haben wir zu den sofort nach dem Tode des Tieres entnommenen Geweben etwas Alkohol hinzugefügt. In mehreren Fällen wurde zu den Geweben auch Blut hinzugefügt.

Trotz energischer Hauptatmung wurde der Alkohol durch das Muskelgewebe nicht angegriffen, andrerseits ist die Menge des oxydierten Alkohols bei Benutzung frischer, die Hauptatmung besitzender Leber nicht größer als durch dasselbe Gewebe mehrere Stunden nach dem Tode zu einer Zeit also, wo die Hauptatmung völlig verschwunden ist.

In unseren Versuchen wird also der Alkohol durch die Hauptatmung nicht oxydiert.

V. Darstellung der Alkoholoxydase.

Die Alkoholoxydase kann in trockenem Zustande durch Alkohol- oder Acetonfällung gewonnen werden. Natürlich ist es besser, Aceton zu verwenden, damit das Präparat frei von Alkohol bleibe.

Die Alkoholoxydase ist ein Ferment von geringer Widerstandsfähigkeit, weswegen bei der Herstellung dieses Ferments gewisse Vorsichtsmaßregeln beachtet werden müssen; die Reinigung kann aus dem Grunde nicht weit getrieben werden.

Man benutzt als Ausgangsmaterial die an Alkoholoxydase reichsten Gewebe, d. h. die Leber von Pferd oder Hammel. Die Leber wird zerrieben, mit dem 3fachen Volumen Aceton versetzt, 5 Minuten lang durchgerührt, durch ein Leinwandtuch gepreßt, und der Niederschlag im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet.

Der getrocknete Niederschlag liefert ein braunes Pulver, das Alkohol zu Aldehyd und zu Essigsäure unter Aufnahme von Sauerstoff oxydieren kann.

40 g dieses Gewebepulvers können unter den früher beschriebenen Versuchsbedingungen im Laufe einer Stunde 0,05 g und noch mehr Alkohol oxydieren.

Diese oxydierende Fähigkeit geht sehr bald verloren, wenn das Präparat an der Luft aufbewahrt wird. Das Pulver absorbiert den Luftsauerstoff, und nach ungefähr 24 Stunden hat es die Alkohol oxydierende Fähigkeit völlig verloren.

Wird hingegen das Präparat im Vakuum bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so behält es seine oxydierende Eigenschaft mehrere Tage hindurch intakt bei.

Wir haben versucht, die Alkoholoxydase weiter zu reinigen. Der Acetonniederschlag wurde schnell im Vakuum getrocknet, darauf mit etwas ammoniakhaltigem Wasser extrahiert und der Extrakt von neuem mit Aceton gefällt und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Aber bei der zweiten Fällung mit Aceton geht der größte Teil der Alkoholoxydase verloren. Die Menge des durch dieses Präparat oxydierbaren Alkohols ist äußerst gering. Die Reinigung der Alkoholoxydase hat mithin schlechte Resultate geliefert.

VI. Einfluß der Reaktion des Mediums.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse einer typischen Versuchsreihe zusammengestellt.

Tabelle II.

Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Wirkung der Alkoholoxydase. Jede Flasche enthält 40 g zerriebener Pferdeleber und 120 ccm Flüssigkeit. Dauer des Schüttelns 1 Stunde. Temperatur 40°.

Reaktion des Mediums	Alkohol g	Aufgenommener Sauerstoff ccm
Neutral gegen Lackmus	00	21
idem	0,30	29
$C_2H_4O_2$ 1:2000	00	14
idem	0,30	16
$C_2H_4O_2$ 1:1000	00	12
idem	0,30	13
NH_3 1:4000	00	24
idem	0,30	36
NH_3 1:2000	00	25
idem	0,30	46
NH_3 1:1000	00	25
idem	0,30	47
NH_3 2:1000	00	22
idem	0,30	37
NH_3 5:1000	00	16
idem	0,30	23
NaOH 1:1500	00	22
idem	0,30	39
NaOH 2:1000	00	16
idem	0,30	18

Diese Versuchsergebnisse sind durch eine Reihe analoger Versuche bestätigt worden.

Es zeigte sich, daß bei 40° die Alkoholoxydase das Maximum der Wirksamkeit in leicht alkalischem Medium aufweist. Die Wirkung der Alkoholoxydase hört bei einer NaOH-Konzentration von 2 bis 3:1000 fast völlig auf. Das Optimum der Alkalinität hängt mit der Temperatur zusammen, und zwar muß man, um das Maximum der Alkoholoxydasewirkung zu erzielen, mit zunehmender Temperatur die Alkalinität herabsetzen und umgekehrt mit abnehmender Temperatur die Alkalinität steigern, wie wir im folgenden Abschnitte zeigen werden.

Die Oxydation des Alkohols hört völlig auf, wenn die Reaktion auch nur schwach sauer ist.

VII. Einfluß der Temperatur auf die Oxydation des Alkohols.

In einer Reihe von Versuchen wurde der Einfluß der Temperatur auf die Intensität der fermentativen Oxydation des Alkohols untersucht. Die Suspensionsflüssigkeit wurde zuerst auf die gewünschte Temperatur

erhitzt und darauf das zu untersuchende Gewebe hineingebracht. Man wartet darauf noch einige Minuten, bis das Reaktionsgemisch das Temperaturgleichgewicht erlangt, und beginnt erst dann zu schütteln.

Die auf diese Weise erzielten Resultate sind je nach dem Alkalinitätsgrade des Reaktionsgemisches verschieden; Als typisch haben wir Versuche gewählt, in denen die Alkalinität sehr schwach war (1:5000 Ammoniak) und solche, wo die Alkalinität recht stark war (Ammoniak 1:1500).

In der folgenden Tabelle sind einige solcher Versuchstypen zusammengestellt.

Tabelle III.

Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Alkoholoxydase in mehr oder weniger alkalischem Medium. Jede Flasche enthält 50 g zerriebener Pferdeleber und 150 ccm Flüssigkeit. Die Dauer des Schüttelns beträgt 1 Stunde.

Gewebe	Alkohol g	Temperatur Grad	NH_3-Konzentration	Aufgenommener Sauerstoff ccm
Leber von Pferd	00	12	1:5000	7
idem	0,30	12	1:5000	9
idem	00	12	1:1500	9
idem	0,30	12	1:1500	12
idem	00	20	1:5000	10
idem	0,30	20	1:5000	14
idem	00	20	1:1500	12
idem	0,30	20	1:1500	20
idem	00	30	1:5000	17
idem	0,30	30	1:5000	26
idem	00	30	1:1500	21
idem	0,30	30	1:1500	41
idem	00	40	1:5000	26
idem	0,30	40	1:5000	44
idem	00	40	1:1500	28
idem	0,30	40	1:1500	55
idem	00	50	1:5000	29
idem	0,30	50	1:5000	57
idem	00	50	1:1500	30
idem	-0,30	50	1:1500	47
idem	00	55	1:5000	31
idem	0,30	55	1:5000	62
idem	00	55	1:1500	31
idem	0,30	55	1:1500	39
idem	00	60	1:5000	23
idem	0,30	60	1:5000	37
idem	00	60	1:1500	22
idem	0,30	60	1:1500	24
idem	00	65	1:5000	13
idem	0,30	65	1:5000	18
idem	00	65	1:1500	10
idem	0,30	65	1:1500	10

Auf Grund der soeben angeführten Versuchsergebnisse haben wir folgende Kurve konstruiert.

Fig. 2.
Steigerung der Sauerstoffaufnahme durch Oxydation des Alkohols (Ordinaten) bei verschiedenen Temperaturen (Abszisse) durch 50 g Pferdeleber in 1 Stunde.

—— Ammoniak in einer Konzentration von 1:5000.
- - - - - „ „ „ „ „ 1:1500.

Diese Kurve zeigt deutlich, daß das Temperaturoptimum der Alkoholoxydasewirkung mit der Alkalinität des Mediums variiert. Bei einer NH_3-Konzentration von 1:5000 liegt dieses Optimum bei ungefähr 55°, wie es auch für die Urikooxydase[1]) der Fall ist.

Bei stärkerer Alkalinität, z. B. NH_3-Konzentration von 1:1500, liegt das Temperaturoptimum bei ungefähr 40°. Außerdem ist bei Temperaturen, die 40° nicht überschreiten, die Oxydation des Alkohols in stärker alkalischem Medium energischer als bei schwacher Alkalinität.

Diese verschiedenen Resultate lassen sich durch die gleichzeitige Wirkung der Alkalinität auf die Oxydation des Alkohols einerseits und auf das Ferment selbst anderseits erklären. Ein Alkalinitätsgrad von 1:1500 NH_3-Konzentration ist für die Oxydation des Alkohols günstiger als eine schwächere Alkalinität. Überschreitet aber die Temperatur 40°,

[1]) Battelli und Stern, Untersuchungen über die Urikase in den Tiergeweben. Diese Zeitschr. 19, 219, 1909.

so macht sich die zerstörende Wirkung höherer Temperaturen auf die Alkoholoxydase mit zunehmender Alkalinität stärker geltend.

Als Ergänzung zu den soeben beschriebenen Untersuchungen haben wir eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Widerstandsfähigkeit der Alkoholoxydase gegen die Einwirkung mehr oder weniger hoher Temperaturen zu prüfen.

Zu diesem Zwecke wurde die die Gewebeemulsion sowie NH_3 enthaltende Flasche in einen Thermostaten von der gewünschten Temperatur gebracht und, nachdem das Reaktionsgemisch auf die gewünschte Temperatur erwärmt worden, weitere 15 Minuten darin stehen gelassen, alsdann abgekühlt, mit etwas Alkohol versetzt und wie gewöhnlich bei 40° geschüttelt. Der Kontrollversuch wird in derselben Weise, nur ohne Alkoholzusatz ausgeführt.

Wir haben gefunden, daß in den Gewebeemulsionen, die 15 Minuten lang mehr oder weniger hohen Temperaturen ausgesetzt waren, die Alkoholoxydase der Pferdeleber stärker geschädigt wurde, wenn die NH_3-Konzentration 1:1500 betrug, als bei einer NH_3-Konzentration von nur 1:5000. In der Tat erfährt die Alkoholoxydase keine Abschwächung, wenn bei einer NH_3-Konzentration von 1:5000 die Gewebeemulsion 15 Minuten lang auf 55° erwärmt wird. Ein Erhitzen auf 60° schwächt unter denselben Bedingungen die Alkoholoxydase nur unbedeutend ab, während bei einer Temperatur von 65° das Ferment zum großen Teil zerstört wird und bei 70° völlig vernichtet wird.

Bei einer NH_3-Konzentration von 1:1500 ist die Zerstörung der Alkoholoxydase schon bei einer Temperatur von 50° deutlich, und bei 65° ist die Vernichtung vollständig.

VIII. Einfluß der Versuchsdauer auf die Oxydation des Alkohols durch die Alkoholoxydase.

Die hierher gehörigen Versuche wurden bei einer Temperatur von 40° und bei einer Alkalinität von 1:3000 Ammoniak ausgeführt. Zur Bestimmung der Alkoholoxydation wurde die Sauerstoffaufnahme durch die Pferdeleber bei Zusatz von Alkohol mit der Sauerstoffaufnahme durch das Gewebe ohne Alkoholzusatz verglichen.

Die Versuchsergebnisse können durch folgende Kurve (Fig. 2) wiedergegeben werden.

Diese Kurve zeigt, daß die Alkoholoxydation anfangs sehr schwach ist. Häufig beobachtet man während der ersten 15 Minuten überhaupt keine Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Die Oxydation ist am intensivsten zwischen 20 bis 40 Minuten. Nach 60 oder 90 Minuten wird die Oxydation des Alkohols gewöhnlich sehr gering, fast unmerklich.

IX. Einfluß der Sauerstofftension.

Die in den vorhergehenden Kapiteln mitgeteilten Versuche sind in einer gewöhnlichen Luftatmosphäre ausgeführt worden. Wir haben außer-

dem eine Reihe von Versuchen angestellt, um zu prüfen, ob in einer Atmosphäre reinen Sauerstoffs andere Resultate erzielt werden.

Fig. 3.

Oxydationsgeschwindigkeit des Alkohols, ausgedrückt durch die Steigerung der Sauerstoffabsorption (Ordinaten in Kubikzentimetern) in den verschiedenen Zeiten (Abszisse in Minuten).

Wir haben gefunden, daß der Einfluß der Sauerstofftension sehr gering ist. In dieser Beziehung verhält sich also die Alkoholoxydase wie die akzessorische Atmung. Im Gegensatz hierzu ist der Einfluß der Sauerstofftension auf die Wirkung der Urikooxydase sowie auf die Hauptatmung sehr bedeutend, wie wir es in früheren Arbeiten gezeigt haben.

X. Einfluß der Alkoholkonzentration.

Die Konzentration des Alkohols scheint in gewissen Grenzen keinen Einfluß auf die Wirkung der Alkoholoxydase auszuüben. Bei Anwendung von Alkohol in einer Konzentration von 1:1000 bis 3:100 wurden die gleichen Resultate erzielt.

XI. Entstehung von Acetaldehyd als intermediäres Produkt.

Wie wir bereits erwähnt haben, führt die fermentative Oxydation des Alkohols durch die Tiergewebe zur Bildung von Aldehyd als Zwischenprodukt.

Wir haben die Beobachtung gemacht, daß die auftretenden Aldehydmengen je nach den Versuchsbedingungen verschieden sind. Der Alkalinitätsgrad spielt hierbei eine sehr wichtige Rolle. In dem Maße, wie die Alkalinität gesteigert wird, nimmt anfangs die gefundene Aldehyd-

menge zu. Wird aber die Alkalinität zu stark, so hört die Aldehydbildung auf, was durch den Umstand erklärt werden kann, daß unter diesen Bedingungen die Oxydation des Alkohols überhaupt ausbleibt. So ist z. B. bei einer NaOH-Konzentration von 1:1000 die konstatierte Aldehydmenge recht beträchtlich und nimmt hierauf mit steigender Alkalinität ab. Bei etwas saurer Reaktion ist die gefundene Aldehydmenge sehr gering, doch ist, wie wir gesehen haben, unter diesen Bedingungen die Oxydation des Alkohols sehr unbedeutend.

Die gefundenen Aldehydmengen weisen in den verschiedenen Versuchen, und zwar auch je nach dem Ursprung des Gewebes, Verschiedenheiten auf. So betragen z. B. die bei Benutzung von 50 g Pferde- oder Hammelleber unter Zusatz von 0,20 g Alkohol gefundenen Aldehydmengen je nach den Versuchsbedingungen 0,001 bis 0,02 g. Unter den gleichen Versuchsbedingungen liefert die Pferdeniere äußerst geringe Aldehydmengen, 0,0005 bis 0,002 g. Alle anderen Gewebe (Milz, Lunge, Muskel, Gehirn usw.) haben keine Spur von Aldehyd geliefert, wie übrigens auch zu erwarten war, da diese Gewebe keine oder nur unmerkliche Alkoholoxydasemengen enthalten.

Die gefundenen Aldehydmengen können über die entstandenen Aldehydmengen keinen exakten Aufschluß geben. In der Tat wird ein Teil des Aldehyds weiter zu Essigsäure oxydiert, und außerdem verschwindet ein Teil des Aldehyds bei Berührung mit den Tiergeweben auch ohne Zutritt von Sauerstoff. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Verbindung zwischen Aldehyd und den verschiedenen Substanzen der Gewebe.

Die in Pulverform nach der früher angegebenen Methode dargestellte Alkoholoxydase führt bei der Oxydation des Alkohols ebenfalls zur Bildung von Aldehyd.

XII. Oxydation einiger anderer Körper: Alkohole, Aldehyde, Ameisensäure.

In zahlreichen Versuchen wurde die oxydierende Wirkung der verschiedenen Gewebe auf die verschiedenen Alkohole und Aldehyde der Fettreihe und der aromatischen Reihe geprüft. Außer dem Äthylalkohol wurden folgende Alkohole untersucht: Methyl-, Propyl-, Isobutyl- und Amylalkohol, Glykol, Glycerin, Saligenin und Benzylalkohol, sowie die folgenden Aldehyde: Formalin, Acet-, Propyl-, Isobutyl-, Valer-, Benz- und Salicylaldehyd. Die Ameisensäure, die zugleich Aldehydfunktion besitzt, wurde ebenfalls geprüft.

In bezug auf die Oxydation mehrerer dieser Substanzen lag die Frage vor, ob alle diese Oxydationen ein und demselben Fermente zuzuschreiben seien. Alle Beobachtungen sprachen dafür, daß die Oxydation der verschiedenen von uns untersuchten Alkohole durch ein und dieselbe Alkoholoxydase bedingt sei. In bezug aber auf die Oxydation der Aldehyde und namentlich des Acetaldehyds blieb die Frage lange unentschieden, da wir die Beobachtung gemacht hatten, daß Acetaldehyd

auch bei Sauerstoffausschluß Essigsäure produzieren kann. Jetzt aber, wo wir die Gewißheit haben, daß diese Säurebildung durch ein besonderes hydrolysierendes Ferment — die Aldehydase — zustande gebracht wird, sind wir zur Annahme geneigt, daß auch die Oxydation der Aldehyde durch die Alkoholoxydase bewirkt werde.

Wir haben gefunden, daß die Gewebe, die keine Alkoholoxydase enthalten, die soeben genannten Alkohole und Aldehyde nicht merklich oxydieren. In der Tat wird die Sauerstoffaufnahme durch die an Alkoholoxydase armen Gewebe durch Zusatz dieser verschiedenen Körper nicht gesteigert. Eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme durch die Lunge der verschiedenen Tiere fand nach Hinzufügen von Benzylalkohol, wie man es nach den Untersuchungen von Jaquet hätte erwarten dürfen, nicht statt.

Die Sauerstoffaufnahme der an Alkoholoxydase armen Gewebe, wie die Leber von Hund und Kaninchen und die Niere von Pferd, wurde durch Zusatz der verschiedenen Alkohole und Aldehyde, die durch die Alkoholoxydase oxydiert werden können, nur wenig gesteigert, während die an Alkoholoxydase reichen Gewebe, wie die Leber von Pferd, Hammel u. a., oft eine energische Oxydation mehrerer dieser Substanzen bewirken. Doch muß bemerkt werden, daß in ein und demselben Gewebe kein enger Parallelismus in der Oxydationsintensität der verschiedenen oxydablen Substanzen besteht. So findet man z. B., daß für ein gegebenes Lebergewebe Zusatz von Acetaldehyd oder Glykol eine größere Steigerung der Sauerstoffaufnahme bewirkt als Zusatz von Methylalkohol, während in einem anderen Versuche das Umgekehrte der Fall ist. In dieser Beziehung bemerkt man große Verschiedenheiten. Immerhin wurde in allen bisherigen Versuchen die größte Steigerung der Sauerstoffaufnahme durch Zusatz von Äthylalkohol erzielt.

In bezug auf die anderen durch die Alkoholoxydase oxydablen Substanzen beobachtet man eine bedeutende Oxydation von Methylalkohol und Glykol, etwas schwächer ist die Oxydation der übrigen Alkohole der Fettreihe sowie des Benzylalkohols, und noch geringer ist die Oxydation des Saligenins. Glycerin scheint überhaupt nicht oxydiert zu werden. Unter den Aldehyden weist nur Acetaldehyd eine deutliche Oxydation auf. Der Einfluß der übrigen Aldehyde auf die Sauerstoffaufnahme ist kaum bemerkbar, wenn die Konzentration dieser Substanzen gering ist; größere Konzentrationen bewirken eine Verminderung der Sauerstoffabsorption. Die Ameisensäure wird merklich oxydiert. Nach Zusatz von Ameisensäure beobachtet man eine Steigerung des Gaswechsels sowohl der Sauerstoffaufnahme als der Kohlensäurebildung, wie wir bereits in früheren Versuchen über die Atmung der Tiergewebe beobachtet hatten.

Immerhin muß bemerkt werden, daß die Aldehyde, die keine Steigerung, vielmehr eine Verminderung der Sauerstoffaufnahme bewirkt haben, trotzdem zum Teil oxydiert sein könnten, und zwar wahrscheinlich an Stelle anderer in den Geweben enthaltenen Substanzen.

Wir haben auch beobachtet, daß Saligenin sowie Benzylalkohol in die entsprechenden Säuren umgewandelt werden, und zwar ausschließlich bei Sauerstoffzutritt. Jaquet hatte die Oxydation des Benzylalkohols zu Benzoesäure durch die künstlich durchblutete Lunge konstatiert. Seine übrigen Oxydationsversuche waren mit Salicylaldehyd angestellt worden.

Um den Einfluß der verschiedenen früher genannten Substanzen auf die Sauerstoffaufnahme der Gewebe zu veranschaulichen, stellen wir die Durchschnittswerte der in den an der Pferdeleber angestellten Versuchen erzielten Resultate in folgender Tabelle zusammen.

Tabelle IV.

Oxydation der verschiedenen Alkohole und Aldehyde durch 100 g Pferdeleber. Dauer des Schüttelns 1 Stunde. Temperatur 40°. NH_3-Konzentration von 1:2000.

Hinzugesetzte Substanz g		Steigerung (+) oder Verminderung (—) der Sauerstoffaufnahme in ccm
Methylalkohol	0,40	+ 23
Äthylalkohol	0,40	+ 51
Propylalkohol	0,40	+ 12
Isobutylalkohol	0,40	+ 11
Amylalkohol	0,40	+ 14
Glykol	0,20	+ 21
Glycerin	0,40	— 1
Benzylalkohol	0,30	+ 13
Saligenin	0,30	+ 3
Formalin	0,10	+ 5
idem	0,30	— 8
Acetaldehyd	0,20	+ 25
idem	0,50	+ 21
Propylaldehyd	0,20	+ 0
Isobutylaldehyd . . .	0,20	— 2
Valeraldehyd	0,20	+ 2
Benzaldehyd	0,20	— 2
Salicylaldehyd	0,10	— 4
idem	0,30	— 9
Ameisensaures Natrium	0,40	+ 17

XIII. Versuche bei Sauerstoffausschluß.

Wir haben gefunden, daß bei Sauerstoffabschluß der Äthylalkohol in allen daraufhin untersuchten Geweben unangegriffen bleibt. Am Ende des Versuches wird der hinzugefügte Alkohol total wiedergefunden. Desgleichen bemerkt man keine Umwandlung des Methyl-, Benzyl- und Salicylalkohols in die entsprechenden Säuren bei Sauerstoffausschluß.

Die Aldehyde können hingegen unter dem Einflusse der Leber, der Lunge, der Niere u. a. auch bei Sauerstoffabschluß die entsprechenden Säuren bilden, aber wie wir bereits früher hervorgehoben, handelt es sich hierbei um einen hydrolytischen Vorgang unter der Einwirkung der

Aldehydase. Die Aldehyde werden in Alkohol und Säure hydrolytisch gespalten.

XIV. Untersuchungen an an Alkohol gewöhnten Tieren.

Pringsheim[1]) hat Versuche betreffend die Alkoholtoleranz der verschiedenen Tiere angestellt und fand, daß die an Alkohol gewöhnten Kaninchen den Alkohol schneller zerstören.

Wir haben an Hunden eine Reihe von Versuchen ausgeführt. Die Tiere erhielten während einer Periode von 7 bis 45 Tagen täglich 2 bis 3 ccm Alkohol pro 1 kg Körpergewicht. Nach der letzten Alkoholingestion wurde 1 bis 3 Tage gewartet und dann das Tier durch Verbluten getötet.

In keinem einzigen Falle haben wir eine Steigerung der Alkohol oxydierenden Fähigkeit der Gewebe konstatiert. Dieses Resultat ist nicht überraschend, wenn man die an den Menschengeweben erzielten Versuchsergebnisse in Erwägung zieht.

XV. Einfluß der Mischung verschiedener Gewebe auf die Wirkung der Alkoholoxydase.

Wir haben die verschiedenen Gewebe zu je zwei untereinander gemischt (Leber, Niere, Milz, Lunge, Muskel) und geprüft, ob die Oxydation des Äthylalkohols dadurch eine Änderung erfährt. Die Resultate waren in der Mehrzahl der Fälle negativ, mit Ausnahme der Milz. Häufig bewirkte Zusatz einer gleichen Gewichtsmenge Milz von Pferd, Hammel u. a. zu den an Alkoholoxydase reichen Lebergeweben eine bedeutende Steigerung der Alkoholoxydasewirkung. Doch ist dieses Resultat nicht konstant. In mehreren Fällen konnte die Alkoholoxydation durch die Leber durch Zusatz von Milz, welcher Art sie auch sei, nicht gesteigert werden.

XVI. Einfluß der Peroxyde auf die Wirkung der Alkoholoxydase.

Zusatz von mehr oder minder großen Mengen Wasserstoffsuperoxyds zu den frischen Geweben (Leber, Niere) oder deren Acetonniederschlägen bewirkte in keinem Falle eine Steigerung der Alkoholoxydation. Allerdings muß bemerkt werden, daß das Wasserstoffsuperoxyd sehr schnell durch die in den Geweben enthaltenen großen Katalasemengen zerstört wird.

XVII. Allgemeine Betrachtungen.

Die Alkoholoxydase bietet ein besonderes Interesse, weil dieses Ferment ebenso wie die Urikooxydase die Sauerstoffabsorption gewisser Gewebe beträchtlich steigern und somit

[1]) Pringsheim, Chemische Untersuchungen über das Wesen der Alkoholtoleranz. Diese Zeitschr. 12, 143, 1908.

eine gewisse Rolle im respiratorischen Gaswechsel der betreffenden Gewebe spielen kann. Die Alkoholoxydase wie auch die Urikooxydase stellen zwei gut definierte Spezialfälle der akzessorischen Atmungsprozesse der Tiergewebe dar. Doch während die Oxydation der Harnsäure zu Allantoin außer der Sauerstoffaufnahme auch von Kohlensäurebildung begleitet ist, findet bei der Oxydation des Alkohols durch die Alkoholoxydase nur Sauerstoffabsorption, aber keine Kohlensäureentwicklung statt. Die übrigen bisher bekannten Oxydasen der höheren Tiere (Tyrosinoxydase, Oxydationsferment der Leukocyten u. a.) wirken nur sehr langsam oder sind in zu ungenügender Menge vorhanden, um eine merkliche Steigerung der Sauerstoffaufnahme bewirken zu können.

Vergleicht man den Gehalt der verschiedenen Gewebe an Alkoholoxydase mit ihrem Gehalt an anderen oxydierenden Fermenten, so findet man vor allem keinen Parallelismus zwischen Alkoholoxydase- und Urikooxydasegehalt. In der Tat enthält die Rinderniere, die das an Urikooxydase reichste Organ ist, keine nennenswerten Mengen Alkoholoxydase. Die Leber der verschiedenen Tiere ist das an Ameisensäure-Peroxydase und zugleich an Alkoholoxydase reichste Gewebe. Aber weiter geht dieser Parallelismus nicht, denn während die Leber von Hund und Kaninchen relativ wenig Alkoholoxydase enthält, sind diese Gewebe an Peroxydase ebenso reich wie die Leber von Pferd, die das an Alkoholoxydase weitaus reichste Organ ist. Anderseits enthält die Leber von Hammel mehr Peroxydase als die Leber von Pferd.

Hingegen existiert ein enger Parallelismus zwischen Alkoholoxydase- und Katalasegehalt der Gewebe. So besitzt die Leber von Pferd, Hammel, Rind und Meerschweinchen bedeutend mehr Alkoholoxydase und Katalase als die Leber von Hund, Kaninchen und Mensch. Wir werden in einer späteren Arbeit auf diesen Punkt zurückkommen.

In bezug auf die Rolle der Alkoholoxydase im lebenden Tierorganismus ist man berechtigt, anzunehmen, daß sie die Funktion eines oxydierenden Ferments gegenüber den Alkoholen und gewissen Aldehyden, die im Darmtractus oder in den Geweben entstehen könnten, auszuüben vermag. Doch wäre es möglich, daß die hauptsächliche physiologische Funktion dieses

Ferments in der Oxydation anderer Substanzen, außer den Alkoholen und Aldehyden, bestehe. Immerhin muß bemerkt werden, daß unter allen daraufhin untersuchten Substanzen Äthylalkohol und Acetaldehyd weitaus am energischsten oxydiert werden.

Es liegt die Frage nahe, ob die Alkoholoxydase eine bedeutende Rolle bei der Zerstörung des absorbierten Alkohols durch den lebenden Organismus spielt. Die Oxydation des Alkohols zu Aldehyd und Essigsäure wurde von den verschiedenen Forschern, die sich mit dem Studium des Mechanismus der Zerstörung des Alkohols im Tierorganismus beschäftigt haben (Buchheim, Masing, Setschenow, Albertoni u. a.), geleugnet, weil sie nach Administration von Alkohol weder in den Geweben noch in den Exkreten Aldehyd oder Essigsäure finden konnten. Nur Duchek behauptete, eine Aldehydbildung konstatiert zu haben, doch wurde seine Behauptung von allen anderen Forschern bestritten. Nach Albertoni[1]) wird der Acetaldehyd nach Injektion selbst geringer Dosen im Harn und in der expirierten Luft wiedergefunden, doch hat er keine quantitativen Bestimmungen gemacht. Wir haben nun gesehen, daß kleine Aldehydmengen bei Berührung mit der Leber schnell verschwinden. Anderseits ist bekannt, daß Essigsäure im Tierkörper schnell zerstört wird, so daß kleinere Aldehyd- und Essigsäuremengen, die bei der Oxydation des Alkohols auftreten könnten, eine weitere Umwandlung erleiden dürften und somit der Beobachtung entgehen. Es muß außerdem bemerkt werden, daß alle Untersuchungen über die Zerstörung des Alkohols im Tierkörper bisher an Hunden, Kaninchen und Menschen angestellt wurden, deren Leber nur wenig Alkoholoxydase enthält. Um die Frage der Entstehung von Aldehyd und Essigsäure als intermediäre Produkte bei der Zerstörung des Alkohols im Tierorganismus einigermaßen beantworten zu können, müßte man die Versuche an Tieren anstellen, deren Leber reich an Alkoholoxydase ist.

Auf Grund unserer Versuchsergebnisse können wir die Behauptung aufstellen, daß jedenfalls ein Teil des genossenen Alkohols fermentativ oxydiert wird unter Bildung von Aldehyd

[1]) Albertoni, Sur la formation et la transformation de l'alcool et de l'aldéhyde dans l'organisme. Arch. ital. de Biol. 9, 168, 1888.

und Essigsäure als intermediäre Produkte. Die auf diese Weise oxydierte Alkoholmenge ist nur gering, selbst bei den Tieren, deren Leber reich an Alkoholoxydase ist, und ist überhaupt kaum nennenswert bei den Tieren, deren Gewebe nur wenig Alkoholoxydase enthalten, wie Hund, Kaninchen, Mensch u. a. Diese Tiere, namentlich der Mensch, besitzen aber die Fähigkeit, größere Mengen Alkohol zu zerstören. Daraus folgt, daß der größere Teil des Alkohols durch einen anderen, uns bisher unbekannten Mechanismus verbrannt wird.

XVIII. Experimentelle Ergebnisse.

1. Die Alkoholoxydase ist ein Ferment, das hauptsächlich auf Äthylalkohol wirkt, und zwar verwandelt es den Alkohol in Essigsäure unter Aufnahme molekularen Sauerstoffs. Als Zwischenprodukt tritt Aldehyd auf.

2. Die Alkoholoxydase besitzt die Fähigkeit, auch andere Alkohole der Fett- und aromatischen Reihe zu oxydieren, wie Methylalkohol, Propylalkohol usw., Glykol, Benzylalkohol und Saligenin. Die Oxydation dieser Alkohole ist geringer als die des Äthylalkohols. Glycerin wird durch die Alkoholoxydase nicht oxydiert.

3. Die Alkoholoxydase oxydiert auch direkt Acetaldehyd zu Essigsäure unter Sauerstoffaufnahme. Die Oxydation der anderen Aldehyde kann nicht bestimmt bewiesen werden infolge des Dazwischentretens eines hydrolysierenden Ferments, der Aldehydase, wodurch Aldehyd ohne Sauerstoffaufnahme in Säure und Alkohol gespalten wird. Die an Alkoholoxydase reichen Leberarten oxydieren auch Ameisensäure unter Bildung von Kohlensäure.

4. Bei Sauerstoffabschluß werden die verschiedenen Alkohole durch die Alkoholoxydase nicht angegriffen.

5. Der Alkohol wird durch die Hauptatmung nicht zerstört.

6. Die Alkoholoxydasemenge nimmt 1 bis 2 Tage nach dem Tode des Tieres in den Geweben nicht ab.

7. Die Alkoholoxydase existiert in größerer Menge in der Leber der verschiedenen Tiere sowie in der Niere des Pferdes. Die Pferdeleber ist das an Alkoholoxydase reichste Organ; die Menschenleber besitzt relativ wenig. Die übrigen Gewebe enthalten kaum nennenswerte Mengen Alkoholoxydase.

8. Die Alkoholoxydase kann in Pulverform durch Acetonfällung der an Alkoholoxydase reichen Leberarten dargestellt werden.

9. Das Temperaturoptimum der Alkoholoxydasewirkung ist ungefähr 55°, wenn die alkalische Reaktion schwach ist (z. B. NH_3 1:5000). Bei stärkerer Alkalinität (NH_3 1:1500) ist das Temperaturoptimum ungefähr 40°.

10. Die Alkoholoxydase wirkt weder in leicht saurem, noch stark alkalischem Medium. Das Optimum dieser Fermentwirkung wird bei schwach alkalischer Reaktion erzielt.

11. Die Oxydationsintensität des Alkohols durch die Alkoholoxydase ist während der ersten Minuten unbedeutend, erreicht darauf ein Maximum und nimmt von neuem allmählich ab. Nach 60 bis 90 Minuten ist die Oxydation äußerst schwach.

12. Die Sauerstofftension hat kaum einen Einfluß auf die Oxydationsintensität des Alkohols.

13. Die Alkoholkonzentration beeinflußt die Oxydationsintensität nicht merklich.

14. Die Menge der Alkoholoxydase nimmt in den Geweben der an Alkohol gewöhnten Tiere nicht zu.

15. Durch Zusatz von Milz zur Leber wird die fermentative Oxydation des Alkohols häufig gesteigert. Die übrigen Gewebe bleiben ohne Wirkung.

16. Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd hat auf die Oxydation des Alkohols durch die frische Leber oder durch deren Acetonniederschlag keinen Einfluß.

Über die spezifische Adaptierung der in den Säugetier-Erythrocyten vorhandenen Gewebskoaguline.

Von

Leo Loeb und Moyer S. Fleisher.

(Aus dem Laboratorium für experimentelle Pathologie der University of Pennsylvania.)

(Eingegangen am 28. Juli 1910.)

In früheren Untersuchungen hat der eine von uns gezeigt, daß die in den Zellen verschiedener Organe enthaltenen Gewebskoaguline bis zu einem gewissen Grade spezifisch adaptiert sind.[1]) Sie sind nicht nur spezifisch verschieden in verschiedenen Tierklassen, sondern sie zeigen auch eine spezifische Adaptierung zu dem Blutplasma dieser Tierklasse, insofern als sie das Plasma eines zu derselben Klasse gehörigen Tieres schneller zur Gerinnung bringen als das Plasma eines einer anderen Klasse angehörenden Tieres. Während es auf diese Weise möglich war, zwischen den Gewebskoagulinen der Säugetiere, Vögel, Reptilien, Amphibien und auch von Fischen zu unterscheiden, war es im allgemeinen nicht möglich, zwischen Tieren, die derselben Klasse angehörten, typische Unterschiede festzustellen.

Zu den früheren Untersuchungen dienten meist Extrakte von Leber, Niere und Muskel der betreffenden Tiere.

Wir fanden nun in weiteren Versuchen, daß in den roten Blutkörperchen der Säugetiere enthaltene gerinnungserregende Substanzen eine weitergehende spezifische Adaptierung auf-

[1]) Leo Loeb, On the coagulation of blood etc. Montreal Medical Journal, July 1903; derselbe, Virchows Archiv 176, 1904.

weisen und daß diese Substanzen es möglich machen, zwischen den Blutkörperchen verschiedener Arten von Säugetieren zu unterscheiden oder, falls die Erythrocyten bekannt sind, ein unbekanntes Blutplasma zu erkennen.

Bei der Anstellung dieser Versuche sind zwei Tatsachen zu berücksichtigen, nämlich: 1. die Erythrocyten, die verschiedenen Tierarten angehören, zeigen absolut sehr verschiedene Quantitäten von Gewebskoagulinen. So sind z. B. die Erythrocyten der Gans sehr arm an gerinnungserregenden Substanzen, obwohl sie Kerne enthalten; auch dem Gansplasma, ebenso wie dem Säugetierplasma gegenüber sind sie fast wirkungslos; die kernhaltigen Erythrocyten der Schildkröte sind viel wirksamer gegenüber Säugetierplasma als die Ganserythrocyten. Auch zwischen den Erythrocyten der verschiedenen Säugetierarten bestehen in vielen Fällen quantitative Unterschiede.

Vergleichen wir die Erythrocyten von Katze, Hund und Kaninchen, so nimmt die absolute Stärke der gerinnungsbeschleunigenden Substanzen im allgemeinen in der angegebenen Reihenfolge ab; die Katzenerythrocyten sind am stärksten, die Kaninchenerythrocyten am wenigsten wirksam. Doch gilt diese Reihenfolge nicht durchgehend. Zuweilen kommt auch ein anderes Verhalten vor.

Daneben kommt auch noch vielleicht der Umstand in Betracht, daß die dem Versuch vorausgehende Behandlung der Erythrocyten nicht in jedem Falle in dem gleichen Maße die in den Zellen vorhandenen Koaguline freisetzte.

Es mußten daher die Versuche derart angestellt werden, daß eine kreuzweise Prüfung der Blutplasmen in bezug auf die Wirkung der Blutkörperchen vorgenommen wurde. Wurde z. B. die Wirkung der Hunde- und Kaninchenerythrocyten gegenüber Hunde- und Kaninchenplasma untersucht, so wurde der Effekt beider Blutkörperchenarten auf beide Plasmen untersucht, und auf diese Weise wurde die Bedeutung der Schwankungen in dem absoluten Gehalte an Koagulinen ausgeschaltet, und nun konnte das Vorhandensein einer spezifischen Adaptierung festgestellt werden.

Die Gerinnungszeit eines Plasmas unter dem Einfluß der Blutkörperchen derselben Spezies mußte r e l a t i v geringer sein als die Gerinnungszeit nach Zusatz von fremden Erythrocyten;

dies konnte natürlich nur dadurch festgestellt werden, daß die Einwirkung beider Blutkörperchenarten auf das andere Plasma mit der auf das erste Blutplasma verglichen wurde.

Ein weiterer Umstand, der in Berücksichtigung zu ziehen ist, ist der folgende: In den hämolysierten Erythrocytenmassen finden sich neben den die Gerinnung beschleunigenden Koagulinen auch Substanzen (oder Faktoren physikalischer Natur), die die Gerinnung hemmen. Aus der Verbindung der gerinnungsbeschleunigenden und gerinnungshemmenden Agenzien resultiert eine bestimmte Kurve, die die Gerinnungszeit des Plasmas als Funktion der dem Plasma zugesetzten Quantitäten hämolysierter Erythrocyten darstellt. Bis zu einem gewissen Optimum verkürzt Zunahme in der Quantität der zugesetzten Erythrocyten die Gerinnungszeit des Plasmas, weiterer Zusatz von Erythrocyten gibt aber dem hemmenden Faktor das Übergewicht, und es tritt eine Verlängerung der Gerinnungszeit ein; d. h. falls das Optimum überschritten ist, gerinnt das Plasma nach Zusatz einer größeren Menge von Erythrocyten langsamer als nach Zusatz einer geringeren Menge. Ein ähnliches Verhalten besteht beim Extrakt der Leber und Niere gegenüber Hirudinplasma. Hirudinplasma diente auch zu den hier mitgeteilten Versuchen.

Nun laufen aber die Kurven bei den Erythrocyten verschiedener Tierarten nicht parallel. In dem Falle der Kaninchenerythrocyten liegt das Optimum bedeutend höher als bei Hunde- und Katzenerythrocyten. Natürlich wurden nicht in jedem Falle beide Schenkel, nämlich der auf- und der absteigende, der Kurve beobachtet. Insbesondere war bei Hunde- und Katzenerythrocyten oft die geringste Menge von Erythrocyten, die benutzt wurde, die optimale. Zusatz von mehr Erythrocyten verschlechterte das Resultat bis zu einer gewissen Grenze nicht wesentlich, bei weiterem Zusatz fand aber dann eine sehr starke Verlängerung der Gerinnungszeit statt. Katzen- und Hundeerythrocyten gleichen sich hierin.

Bei Kaninchenerythrocyten ist der Verlauf der Kurve viel flacher; zuweilen lag das Optimum der gerinnungserregenden Wirkung in der Nähe des maximalen Zusatzes der Erythrocyten; falls dies nicht der Fall war, verlängerte weiterer Zusatz von hämolysierten Erythrocyten die Gerinnungszeit nur in viel

geringerem Maße, als dies bei Hunde- nnd Katzenerythrocyten der Fall war.

Es war unter diesen Umständen nötig, jedesmal die Optimalmengen der verschiedenen Erythrocytenmengen zu vergleichen. Dies wurde dadurch erleichtert, daß gewöhnlich nahe dem Optimum die Kurve mehr oder weniger flach war, so daß die Fehlerquelle, die darin lag, daß man zufällig das Optimum der Erythrocytenmenge nicht prüfte, kaum in Betracht kam, falls verschiedene Mengen von Erythrocyten in jedem Falle zugesetzt wurden.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: Hirudinplasma wurde aus dem Blute der Tierarten, die verglichen werden sollten, hergestellt. Zugleich wurden durch Defibrinieren des Blutes die Erythrocyten derselben Tierarten gewonnen. Die Erythrocyten wurden durch viermaliges Waschen mit 0,85 %iger NaCl-Lösung und Zentrifugieren vom Serum befreit; sodann wurde eine bestimmte Menge der Erythrocyten durch Zusatz von etwa 5 bis 10 ccm Äther und längeres Schütteln hämolysiert. Darauf blieben die Erythrocyten während mehrerer Stunden auf dem Eise stehen; der Äther verdunstete zu einem großen Teil; durch Durchblasen von Luft konnte dieser Prozeß beschleunigt werden. Geringe zurückbleibende Quantitäten von Äther schienen ohne wesentliche Bedeutung zu sein. Zu je 1 ccm des Plasmas wurden dann verschiedene Mengen von hämolysierten Erythrocyten, die zwischen 1 ccm und 0,2 ccm variierten, zugesetzt. Nach der Behandlung mit Äther war die zurückgebliebene Menge von Stroma im Falle des Katzen- und Hundeblutes bedeutend größer als im Falle des Kaninchenblutes; und hiermit mag auch vielleicht die Tatsache zusammenhängen, daß das Optimum der Katzen- und Hundeerythrocyten niedriger lag als das der Kaninchenerythrocyten und daß im ersteren Falle der Zusatz von mehr Blutkörperchen stärker hemmend wirkte.

Zu unseren Versuchen dienten Hunde-, Katzen- und Kaninchenhirudinplasmen und die entsprechenden Erythrocyten. Außerdem wurden einige Versuche mit Gansplasma und mit Gans- und Schildkrötenerythrocyten angestellt.

In den meisten Versuchen wurden jedesmal alle Reagenzien, d. h. Plasma und Erythrocyten von einem anderen Tiere der

betreffenden Spezies frisch gewonnen; in einigen Versuchen wurde nur ein Teil der Reagenzien (Blutkörperchen oder Plasmen) frisch hergestellt. In einigen Versuchen wurden dieselben Reagenzien 1 oder 2 Tage auf Eis gehalten, und dann wurde wiederum der Einfluß der Erythrocyten geprüft. Diese letzteren Versuche sind im folgenden nur zum Teil angeführt; auch die nicht mitgeteilten Versuche ergaben dieselben Resultate. Solche Doppelversuche wurden insbesondere dann angestellt, falls die Zahl der zugesetzten Erythrocytenmengen in dem betreffenden Versuche nicht so groß war wie gewöhnlich.

Im folgenden sollen die Ergebnisse der einzelnen Versuche in abgekürzter Form wiedergegeben werden; es werden hierbei in jedem Falle die Quotienten der durch die optimale Erythrocytenmenge der zu vergleichenden Arten bedingten Gerinnungszeiten einem jeden Plasma gegenüber verglichen. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß der Quotient in jedem Falle größer ist, falls der Nenner des Quotienten diejenige Gerinnungszeit darstellt, die durch die optimale Menge Erythrocyten derjenigen Tierart bewirkt wird, von der auch das Plasma gewonnen wurde. Falls z. B. der Quotient Gerinnungszeit durch die Erythrocyten des $\frac{\text{Hundes}}{\text{Kaninchens}}$ gegenüber Hundehirudinplasma festgestellt wurde, war der Quotient kleiner, als wenn derselbe Quotient gegenüber Kaninchenplasma festgestellt wurde. Die im Anhang wiedergegebenen Versuche stellen diese Quotienten in ihren Beziehungen zu den verschiedenen Plasmen dar.

Da sich dieses Verhalten in allen Versuchen fand, so ergibt sich hieraus die spezifische Adaptierung der in den Erythrocyten einer Art enthaltenen Koaguline an das Blutplasma derselben Tierart. Falls also 3 Faktoren bekannt sind, kann auf diese Weise der 4. Faktor, sei es die Art der Erythrocyten oder des Blutplasmas, bestimmt werden. Die spezifische Adaptierung der in den Erythrocyten enthaltenen Koaguline an die Blutplasmen ist also viel weitgehender als die Adaptierung der in anderen Organen enthaltenen Koaguline. Jedenfalls ist eine spezifische Adaptierung der Koaguline an das Blutplasma eines Tieres derselben Art, im Gegensatz zur Tierklasse, bei Erythro-

Versuche:

Erklärung der Abkürzungen: HHP = Hundehirudinplasma, KHP = Kaninchenhirudinplasma, CHP = Katzenhirudinplasma, HE = Hundeerythrocyten, KE = Kaninchenerythrocyten, CE = Katzenerythrocyten.

Die beistehenden Zahlen geben die optimalen Gerinnungszeiten in Minuten und Sekunden an.

A. Kaninchen-Hund.

Nummer der Versuche		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Kombination von Erythrocyten und Plasma	HHP + HE	2′ 40″	4′ 50″	7′ 40″	6′ 50″	5′ 45″	9′ 25″	6′	16′ 45″	10′	9′	5′ 40″
	HHP + KE	16′ 15″	16′ 25″	12′	13′ 10″	11′	12′ 40″	26′ 20″	48′	68′ 30″	29′ 10″	10′ 5″
	KHP + HE	5′ 35″	10′	25′	7′ 43″	11′ 40″	14′ 10″	104′ 30″	23′ 25″	6′ 50″	12′ 10″	20′ 20″
	KHP + KE	22′	12′ 5″	20′ 30″	11′ 25″	14′ 35″	9′ 25″	58′ 40″	59′	13′ 50″	18′ 30″	23′ 25″
Quotienten von $\frac{HE}{KE}$ gegenüber	HHP	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{3,4}$	$\frac{1}{1,56}$	$\frac{1}{1,93}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{1,3}$	$\frac{1}{4,4}$	$\frac{1}{2,9}$	$\frac{1}{6,8}$	$\frac{1}{3,2}$	$\frac{1}{1,8}$
	KHP	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{1,2}$	$\frac{1}{0,9}$	$\frac{1}{1,5}$	$\frac{1}{1,3}$	$\frac{1,5}{1}$	$\frac{1,8}{1}$	$\frac{1}{2,5}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{1,3}$

B. Hund-Katze.

Nummer der Versuche		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kombination von Erythrocyten und Plasma	HHP + HE	13′ 10″	14′ 50″	10′ 40″	14′ 45″	13′ 50″	20′ 40″	5′ 40″	8′ 55″	10′	16′ 45″
	HHP + CE	12′ 40″	11′ 50″	11′ 50″	12′ 40″	18′ 30″	20′ 30″	4′ 5″	7′ 50″	12′	17′ 5″
	CHP + HE	16′ 30″	27′	16′ 30″	26′ 50″	17′ 55″	29′ 50″	9′ 10″	27′	7′	12′
	CHP + CE	11′ 30″	13′ 50″	13′ 15″	13′ 40″	16′ 36″	16′ 25″	6′ 30″	9′ 45″	6′ 30″	10′ 20″
Quotienten von $\frac{HE}{CE}$ gegenüber	HHP	$\frac{1,04}{1}$	$\frac{1,25}{1}$	$\frac{1}{1,1}$	$\frac{1,16}{1}$	$\frac{1}{1,34}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1,3}{1}$	$\frac{1,13}{1}$	$\frac{1}{1,2}$	$\frac{1}{1,02}$
	CHP	$\frac{1,44}{1}$	$\frac{1,95}{1}$	$\frac{1,25}{1}$	$\frac{1,96}{1}$	$\frac{1,1}{1}$	$\frac{1,8}{1}$	$\frac{1,4}{1}$	$\frac{2,8}{1}$	$\frac{1,07}{1}$	$\frac{1,16}{1}$

cyten, nicht aber im allgemeinen im Falle der anderen Organe nachweisbar.

Worauf dieser Unterschied zwischen den Koagulinen der Erythrocyten und der anderen Organe beruht, soll hier nicht genauer untersucht werden. Nur so viel soll hervorgehoben werden, daß in einer bestimmten Beziehung die Erythrocyten sich von den Extrakten der verschiedenen Organe, z. B. Niere, unterscheiden. Wie der eine von uns vor einigen Jahren zuerst nachwies,[1]) gehen gewisse Bestandteile der Gewebskoaguline mit Bestandteilen von Blutseren, insbesondere mit solchen des Hundes eine Bindung ein, die eine gewisse Zeit zu ihrem Ablauf beansprucht und die je nach der Art des Serums und der Zeit, während der Serum und Koagulin aufeinander wirken, ehe sie dem Plasma zugesetzt werden, eine größere oder kleinere Menge der Koaguline inaktiviert. Gegenüber hämolysierten Erythrocyten verhält sich nun Serum ein wenig anders, wie wir das später darlegen werden, und es ist möglich, daß auf diesem Unterschied zwischen Erythrocyten und Gewebsextrakten die Tatsache beruht, daß eine weitergehende spezifische Adaptierung der Erythrocyten an das zugehörige Blutplasma nachweisbar ist, als dies im Falle der Gewebsextrakte der Fall ist.

Versuche:

C. Kaninchen-Katze.

Nummer der Versuche		1	2	3
Kombination von Erythrocyten und Plasma	KHP + KE	59′	13′ 50″	18′ 30″
	KHP + CE	28′ 35″	6′ 40″	13′ 00″
	CHP + KE	23′	78′	20′ 50″
	CHP + CE	10′ 20″	6′ 3″	9′ 45″
Quotienten von $\frac{KE}{CE}$ gegenüber	KHP	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{1,4}{1}$
	CHP	$\frac{2,3}{1}$	$\frac{12}{1}$	$\frac{2,2}{1}$

[1]) Leo Loeb, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 201, 1907 und Sammelreferat über Blutgerinnung im Biochemischen Centralbl. 6, 14, 1907.

Über den Einfluß der Konzentration der Hydroxylionen in einer Chlornatriumlösung auf die relative entgiftende Wirkung von Kalium und Calcium.

Von

Jacques Loeb.

(Aus dem Rockefeller-Institut in New York.)

(Eingegangen am 17. August 1910.)

Die Versuche der letzten Jahre haben gezeigt, daß Calcium und Kalium allgemein die Giftwirkung einer Chlornatriumlösung hemmen. Die schlagendsten Versuche in dieser Richtung sind vielleicht von Osterhout an Süßwasserpflanzen und Weizen angestellt, in denen es sich ergab, daß man diese Pflanzen in Kochsalzlösungen von höherer Konzentration züchten kann, wenn man nur Kalium oder Calcium zufügt. Es ist nunmehr die Aufgabe zu lösen, in den Mechanismus dieser Entgiftungsvorgänge weiter einzudringen. In dieser Arbeit will ich den Nachweis führen, daß Calcium und Kalium anscheinend in verschiedene chemische Vorgänge eingreifen; es läßt sich nämlich zeigen, daß Calcium vorwiegend bei einer höheren Konzentration der Hydroxylionen der Chlornatriumlösung wirkt, Kalium dagegen bei einer niedrigeren; mit anderen Worten: für das für unsere Versuche gewählte biologische Objekt — befruchtetes Ei von Strongylocentratus purpuratus — übt Calcium seine vorwiegende entgiftende Wirkung in einer alkalischen, Kalium dagegen in einer neutralen und schwach sauren Chlornatriumlösung aus. Als neutral betrachten wir eine Lösung, die folgender Bedingung genügt: 50 ccm der Lösung geben mit einem Tropfen einer $^{m}/_{100}$-Neutralrotlösung eine rote Farbe, die ins Gelbliche umschlägt, wenn man 1 bis 2 Tropfen einer

$^m/_{100}$-NaHO-Lösung zufügt. Dieser Farbenumschlag ist wegen der Kohlensäureabsorption aus der Luft nicht dauernd.

Die frisch befruchteten Eier eines Weibchens wurden stets in folgende 4 Lösungen verteilt:

1. 50 ccm $^m/_2$-NaCl
2. 50 „ „ + 0,7 ccm $^3/_8$ m-$CaCl_2$
3. 50 „ „ + 1,1 ccm $^m/_2$-KCl
4. 50 „ „ + 1,1 „ „ + 0,7 ccm $^3/_8$ m-$CaCl_2$.

Das Verhältnis der drei erwähnten Salze entspricht demjenigen des Seewassers. Die Konzentration ist die optimale für die Entwicklung der Eier. Nach verschiedenen Intervallen wurden die Eier aus diesen Lösungen in normales Seewasser übertragen und der Prozentsatz der überlebenden, d. h. sich entwickelnden Eier bestimmt.

Die erwähnten Lösungen waren neutral, und um sie sauer oder alkalisch zu machen, werden kleine Mengen HCl (oder Buttersäure) oder NaHO zugefügt. Wir geben die Resultate einiger Versuche in Tabellenform wieder.

Zum Verständnis der Tabellen sei erwähnt, daß unter Expositionsdauer die Zeit verstanden wird, während der die Eier in den erwähnten vier Salzlösungen blieben. Die Tabelle gibt den Prozentsatz der Eier an, die sich nach der Übertragung in Seewasser zu schwimmenden Larven entwickelten.

Tabelle I.

Neutrale Lösungen.

Expositionsdauer	Natur der Lösung			
	Na %	Na + K %	Na + Ca %	Na + K + Ca %
9 Stunden . .	60	90	50	100
17½ „ . .	0	90	0	95
36 „ . .	0	einige Larven	0	einige Larven

Man sieht also, daß in dieser neutralen Lösung die entgiftende Wirkung des K + Ca hauptsächlich auf das Kalium zurückzuführen ist und daß das Calcium dabei nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Eier desselben Weibchens wurden in dieselben 4 Lösungen verteilt, die durch Zusatz von je 0,2 ccm $^n/_{10}$-NaHO zu je

50 ccm der Lösung alkalisch gemacht waren. Tabelle II enthält das Resultat.

Tabelle II.

Alkalische Lösungen ($^n/_{2500}$-NaHO).

Expositions-dauer	Natur der Lösung			
	Na %	Na + K %	Na + Ca %	Na + K + Ca %
2 Stunden . .	40	60	90	100
3 Std. 22 Min. .	$^1/_4$	5	90	100
5 „ 45 „ .	0	5	5	100
9 „	0	0	0	25

Zwei Tatsachen sind in dieser Zusammenstellung deutlich, nämlich erstens, daß die entgiftende Wirkung von Ca in einer alkalischen Chlornatriumlösung größer ist als die von K, und zweitens, daß die entgiftende Wirkung von K + Ca größer ist als die Summe der Einzelwirkung von K und Ca.

Eine dritte Portion der Eier desselben Weibchens wurde in dieselben 4 Lösungen verteilt, die aber durch Zusatz von je 0,2 ccm $^n/_{10}$-HCl sauer gemacht waren.

Tabelle III.

Saure Lösungen ($^n/_{2500}$-HCl).

Expositions-dauer	Natur der Lösung			
	Na %	Na + K %	Na + Ca %	Na + K + Ca %
95 Minuten . .	80	90	70	95
115 „ . .	2	15	2	25
135 „ . .	0	6	0	8
175 „ . .	0	0	0	0

Wie in der neutralen Lösung ist die entgiftende Wirkung des Calciums relativ gering, während die des Kaliums sehr deutlich ist. Aber auch hier ist die entgiftende Wirkung von K + Ca größer als die Summe der entgiftenden Wirkungen, die jedem der beiden Bestandteile allein zukommt.

Ich habe eine sehr große Zahl von Versuchen über diesen Gegenstand angestellt, die alle das Gesagte bestätigen und deren Mitteilung in extenso, abgesehen von der Mühe des Schreibens resp. Lesens, dem Gesagten wenig zufügen könnte. Ein paar Tabellen sollen aber hier zur weiteren Illustration doch folgen.

Tabelle IV.
Saure Lösungen ($^n/_{5000}$-HCl).

Expositions-dauer	Natur der Lösung			
	Na %	Na + K %	Na + Ca %	Na + Ca + K %
60 Minuten . .	100	100	100	100
100 „ . .	10	30	10	75
132 „ . .	0	0	0	0

Ein Teil der Eier desselben Weibchens war in die entsprechenden alkalischen Lösungen gebracht worden.

Tabelle V.
Alkalische Lösungen ($^n/_{5000}$-NaHO).

Expositions-dauer	Natur der Lösung			
	Na %	Na + K %	Na + Ca %	Na + K + Ca %
2 Stunden . .	0	$^1/_2$	100	100
$4^1/_2$ „ . .	0	0	1	100

Nebenbei soll auch dieser Versuch illustrieren, daß die bei den Eiern verschiedener Weibchen gewonnenen Resultate nicht immer von derselben Größenordnung sind. Das kann aber vielleicht auch daran liegen, daß die Zeit zwischen Befruchtung und dem Einbringen der Eier in die abnorme Lösung nicht immer die gleiche war und daß dieser Unterschied für die Giftwirkung alkalischer Lösungen (und vielleicht auch saurer) nicht ohne Bedeutung ist.

Die hier gemachten Beobachtungen werden nun durch folgende Tatsachen erweitert und gestützt. Wenn man frisch befruchtete Eier von Arbacia in eine neutrale Mischung von 50 ccm $^m/_2$-NaCl + 1,1 ccm $^m/_2$-KCl bringt, so entwickeln sich dieselben bis zum 64. Zellstadium; macht man die Lösung schwach alkalisch, so gehen die Eier rasch an Cytolyse zugrunde.

Bringt man solche Eier aber in eine neutrale Mischung von 50 ccm $^m/_2$-NaCl + 0,8 ccm $^3/_8$ m-$CaCl_2$, so furchen sich meist nur etwa 25 % der Eier von Arbacia, und die Furchung geht meist nicht über das Vierzellenstadium hinaus. Fügt man der Lösung aber etwas NaHO zu, so furchen sich alle Eier von Arbacia, und die Furchung geht bis zum 16. Zellstadium oder

noch weiter. Auch das stützt die Ansicht, daß die entgiftende Wirkung von Calcium sich wesentlich (aber nicht ausschließlich) auf solche Prozesse geltend macht, die bei alkalischer Reaktion der Chlornatriumlösung stattfinden, während die entgiftende Wirkung von K sich wesentlich (aber nicht ausschließlich) bei solchen Prozessen geltend macht, die sich bei neutraler oder schwach saurer Reaktion der Chlornatriumlösung im Seeigelei abspielen.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Bei einer neutralen oder schwach sauren Reaktion wird eine Chlornatriumlösung besser durch Kalium als durch Calcium entgiftet; bei einer alkalischen Reaktion der Chlornatriumlösung ist die entgiftende Wirkung von Calcium deutlicher als die von Kalium.

2. In allen Fällen ist die entgiftende Wirkung, die durch den Zusatz von K + Ca zur Chlornatriumlösung hervorgerufen wird, größer als die Summe der entgiftenden Wirkungen, die stattfinden, wenn die beiden Stoffe einzeln zugefügt werden.

3. Zusatz von etwas Alkali zu einer neutralen Mischung von $NaCl + KCl$ macht die Lösung giftiger, während derselbe Zusatz zu einer neutralen Mischung von $NaCl + CaCl_2$ die Lösung günstiger macht für die Entwicklung des Seeigeleies.

4. Die erwähnten Resultate beziehen sich auf Versuche am befruchteten Seeigelei.

Uber Melanurie.

Von

Hans Eppinger.

(Aus der ersten medizinischen Klinik und dem Laboratorium der L. Spieglerschen Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 15. August 1910.)

Der Ursprung der unter pathologischen Umständen in bösartigen Geschwülsten abgelagerten Melanine ist ebensowenig völlig erforscht, wie der Ursprung der unter physiologischen Bedingungen entstehenden tierischen Pigmente.

Die ursprüngliche Anschauung, daß das normale Pigment sich chemisch vom Blutfarbstoff bzw. von der Hämatinkomponente desselben ableitet, einer Anschauung, die hauptsächlich von Histologen vertreten wurde, hat einen wesentlichen Stoß durch die Untersuchungen von Eduard Spiegler[1]) erhalten, der nachweisen konnte, daß Haarpigment im Gegensatze zum Hämatin, welch letzteres bei der Reduktion mit Jodwasserstoffsäure nach Nencki Hämopyrrol liefert, bei gleicher Behandlung nicht dieses für den Blutfarbstoff charakteristische Derivat zeigt; das Hämopyrrol nun ist als der letzte Baustein des Hämatins anzusehen. E. Spiegler schlug nun den anderen Weg ein, der zur Aufklärung der Konstitution des Blutfarbstoffes verwendet wurde, indem er das Pigment mit Chromsäure oxydierte, bei welcher Behandlung man aus Hämatin Hämatinsäuren erhält. Aber statt der Hämatinsäuren erhielt er die stickstofffreie Methyldibutylessigsäure, die als Oxydationsprodukt des Isotrobutylens (Duodecylen $C_{12}H_{24}$) anzusehen ist. Späterhin hat Hans Wolff[2]) durch Behandlung von melanotischem Pigment mit Brom und Bromwasserstoffsäure Xyliton $C_{12}H_{18}O$ bekommen, eine Substanz von gleicher Kohlenstoffzahl wie die Spieglersche, die aber ein Ringsystem enthält. Beide Substanzen sind sehr auffällig wegen ihres großen Reichtums an Methylgruppen. Diese beiden Substanzen stehen jedoch kaum in Beziehungen zu der Farbstoffkomponente des Pigmentes, vielmehr scheint das Pigment aus zwei Quellen zu entstehen, die eine mag ein

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 40.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 476.

Kondensationsprodukt des Acetons sein, die andere aber ist mit allergrößter Wahrscheinlichkeit das Tryptophan aus dem Eiweiß (Spiegler). Dieses Tryptophan wird aber nach den neueren Untersuchungen sehr wahrscheinlich auch die Muttersubstanz des Hämopyrrols und damit auch des Hämatins und des Hämoglobins sein (Emil Abderhalden, O. v. Piloti). Das Tryptophan ist eine sehr labile, zur Farbstoffbildung neigende Substanz. Schon durch kurze Einwirkung konz. Salzsäure färbt es sich blau, bei längerer Einwirkung zerfällt es, und die künstliche Melanoidinsäure, die man bei den Hydrolysen von Eiweiß stets erhält, dürfte auf Tryptophan als die Hauptquelle zu beziehen sein. Wir wissen auch, daß der Farbstoff der Purpurschnecken sich nach den Untersuchungen von Paul Friedländer als Bromindigo erwiesen hat und daß Tryptophan Indol und Skatol abspalten kann, die als Muttersubstanzen des Indigotins, des Skatolrots und wahrscheinlich auch anderer Farbstoffe anzusehen sind. Es haben Alexander Ellinger u. Claude Flamand[1]) vor kurzem auf neue künstliche Farbstoffe, die sich vom β-Indolaldehyd ableiten, hingewiesen, die als Triindylmethanfarbstoffe anzusehen sind. In diese Klasse gehört anscheinend auch das von Herter in seiner Entstehung aufgeklärte, von Nencki und Sieber gefundene Urorosein[2]). Herter konnte nachweisen, daß diese Substanz durch Einwirkung von Säure und Nitrit auf Indolessigsäure entsteht. Vielleicht gehört auch das Skatolrot, der rote Farbstoff, der beim Ansäuern des Urins nach Skatoldarreichung auftritt, in diese Farbstoffgruppe, und Ellinger denkt daran, daß das Tryptophan vielleicht im Organismus zu β-Indolaldehyd oxydiert wird und dieser Aldehyd sich im Organismus mit anderen Substanzen zu Farbstoffen, den Melaninen, kondensiert.

Sichergestellt ist nur eins. Wenn man Pigment mit Kali schmilzt, so erhält man Indol und Skatol, sowie eine ätherlösliche Säure, die sich mit Eisenchlorid blauschwarz färbt, und aus den meisten Melaninen konnte man bei der Kalischmelze Indol erhalten. Wir verweisen bezüglich der großen Literatur auf ein ausführliches Sammelreferat von Fürth im Centralblatt f. Pathol. u. pathol. Anat. 15, Nr. 15, 1904. Aber auch Tyrosin und sein Umwandlungsprodukt Adrenalin könnten als farbstoffbildende Muttersubstanzen angesehen werden, und dafür sprachen auch Versuche, bei denen sowohl Tyrosin als auch andere Phenolderivate nebst den Tryptophan von der Tyrosinase sowohl in Pflanzen als auch bei Tieren in Pigment übergeführt wurden (C. Neuberg[3]). Es existiert aber kein stringenter Beweis dafür, daß sich das Tyrosin an der Farbstoffbildung wesentlich beteiligt, und wir sind nur auf das Experiment in vitro angewiesen, das uns die Umwandlung vom Tyrosin in einen Farbstoff auf enzymatischem Wege demonstriert, sowie auf zwei Derivate des Tyrosins, die sehr zur Farb-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 276, 1909.

[2]) Journ. of Biolog. Chem. 4, 253, 1908.

[3]) Virchows Archiv 192, 514, 1908. Diese Zeitschr. 8, 383, 1907. Zeitschr. f. Krebsforsch. 8, 1909.

stoffbildung neigen, d. i. das Adrenalin und die Homogentisinsäure. Gessard[1]) ist es in vitro gelungen, verschiedene Farbstoffe aus Tyrosin durch Tyrosinase bei Gegenwart anderer Aminosäure zu erhalten.

Wir sind nun in der Lage, einen sicheren Beweis für die Entstehung des Melanins aus dem Tryptophan zu erbringen, da wir in einem pathologischen Falle von Melaninbildung einen Zwischenkörper isolieren konnten, der farbstoffbildend und vom Tryptophan abstammt. Wir können sowohl den chemischen Nachweis der Abstammung dieser Substanz aus dem Tryptophan, sowie ihren Übergang in Melanin erbringen, als auch experimentell zeigen, daß wir bei Verfütterung von Tryptophan eine 3mal so große Ausscheidung dieses Körpers als vorher erhielten, während Tyrosin die Ausscheidung überhaupt nicht alterierte, ebensowenig, wie Phenylalanin, während diese beiden aromatischen Substanzen die Homogentisinsäure-Ausscheidung beim Alkaptonuriker quantitativ beeinflussen. Wie in vielen physiologischen Fragen, so hat uns auch hier die Pathologie den Weg der Erforschung der Melaninbildung und mit ihr wahrscheinlich der normalen Pigmentbildung gewiesen und geebnet.

Kranke mit melanotischen Tumoren scheiden vielfach einen Harn aus, der teils frisch gelassen bereits dunkel gefärbt ist, teils erst an der Luft nachdunkelt. Durch Zusatz von oxydierenden Stoffen zum Harne, wie Chromsäure, Bromwasser und Eisenchlorid usw., tritt augenblicklich die Dunkelfärbung ein. Man nennt die bisher unbekannte Muttersubstanz dieser oxydierten dunkeln Farbstoffe das Melanogen. Sowohl das Melanin als auch das Melanogen, sind durchaus nicht in jedem Falle von Melanosarkom im Harne vorhanden, sondern zumeist nur dann, wenn zahlreiche Metastasen zu finden sind und, wie wir glauben, vorzugsweise nur dann, wenn hauptsächlich die Leber der Sitz dieser Metastasen ist. Es ist vielleicht zu vermuten, daß anfangs die Sarkommassen die Umbildung bis zum Farbstoff Melanin durchführen können, späterhin aber diese Funktion stockt und ein Teil des Zwischenproduktes mit dem Harne ausgeschieden wird. Diese Melanine aus Melanosarkomen hat man ebenso isoliert und untersucht wie die Melanine aus Haaren und aus der Chorioidea.

---

[1]) Gessard, Soc. Biol. 54, 1305.

Nach den Untersuchungen von Nencki[1]) sowie von Mörner[2]) sind diese Farbstoffe, die sich zugleich im Harne und in melanotischen Geschwülsten finden, sehr arm an Eisen, enthalten aber 6 bis 9%, Schwefel. Diese Präparate zeigten einen auffällig hohen Stickstoffwert im Verhältnisse zu dem Kohlenstoff, aber die Elementar-Analysen so komplizierter Körper können uns über die Bildung und die Konstitution für sich keine Auskunft geben, und wir erfahren ihre Bedeutung erst, wenn wir auf anderem Wege den Bildungsmechanismus, die Muttersubstanz usw. gefunden haben. Eiselt[3]) in Prag hat das Verdienst, die Grundbeobachtung über Melanurie gemacht zu haben. Als er einen solchen hochgelben Urin mit konz. Salpetersäure auf Gallenfarbstoff prüfte, fand er, daß dieser augenblicklich schwarz wurde. Ebenso wirkten verschiedene andere oxydierende Agenzien; selbst beim bloßen Stehen an der Luft färbte sich der Harn schwarz, ganz ähnlich wie bei der Alkaptonurie, nur ist die Färbung unabhängig von der alkalischen Reaktion. Es handelte sich in allen von ihm veröffentlichten Fällen um Carcinome oder Tumoren in der Leber. Die farbstoffbildende Substanz fällt nicht mit essigsaurem Blei, aber mit basischem Bleiacetat.

Thormählen hat darauf aufmerksam gemacht, daß in vielen Fällen von Melanurie, aber nicht in allen, der Harn eine eigentümliche Reaktion mit Nitroprussidnatrium zeigt. Versetzt man einen solchen Harn mit Nitroprussidnatriumlösung und Kalilauge, so entsteht eine tiefrotviolette Färbung. Beim Ansäuern entsteht eine tiefblaue Farbe, eine Reaktion, die er ursprünglich bei einem Fall von Melanosarkom beobachtete. Diese Reaktion studierte dann eingehend v. Jacksch. Andere Untersucher sahen das Auftreten dieser Reaktion auch in Fällen, bei denen kein Melanosarkom bestand. Indol selbst gibt die gleiche Reaktion.

Wir beobachteten einen Fall von Melanosarkom, in dem diese Reaktion sowie alle anderen im Harne sehr intensiv auftraten. Eine 61jährige Frau litt an einem Melanosarkom, das von der Chorioidea ausging. Die Reaktion mit Nitroprussidnatrium war sehr stark positiv, die Blaufärbung änderte sich beim Stehen nicht.

Setzt man aber granuliertes Zink oder Zinkacetat zu, so ändert sie sich und geht verschieden schnell in ein Rötlich-

---

[1]) Berdez und Nencki, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 20, 246; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 567.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 11, 81.

[3]) Vierteljahrschr. f. d. prakt. Heilk. 70, 107, Prag 1861; 76, 16, 1862.

violett über, gleichzeitig bilden sich Flocken, die den Farbstoff niederreißen, und die Lösung klärt sich. Das Filtrat von diesem Farbstoff zeigt weder eine Reaktion mit Nitroprussidnatrium mehr, noch sonst eine Probe auf Melanin.

Der native Harn zeigte noch einige andere Reaktionen: Bereits nach Zusatz von etwas Natriumnitrit und etwas Salzsäure trat eine intensive Rotfärbung auf. Ferner gab der Harn eine sehr starke Diazoreaktion, wobei die Rotfärbung oft schon nach dem Mischen mit dem Ehrlichschen Reagens ohne Zusatz von Ammoniak auftrat. Dimethylaminobenzaldehyd erzeugte in salzsaurer Lösung eine intensive Rotfärbung, während Urobilin in den Harnen nicht nachweisbar war. Diese Proben wies der Harn der Patientin 30 Tage lang auf, also während der ganzen Beobachtungszeit auf der Klinik bis zum Exitus.

Wie die klinische Beobachtung und die Sektion übereinstimmend zeigten, handelt es sich um eine allgemeine Melanosarkomatose, vorwiegend in der Leber, welches Organ mächtig vergrößert und in eine schwarze Masse verwandelt bei der Sektion gefunden wurde.

Die Muttersubstanz, welche die verschiedenen Farbenreaktionen gab, das Melanogen, isolierten wir auf folgendem Wege, von der theoretischen Voraussetzung ausgehend, daß es sich vielleicht um ein Tryptophanderivat handelt. Der Harn wurde ohne jede vorhergehende Reinigung mit einer 10 % Schwefelsäure enthaltenden 10 %igen Quecksilberoxydsulfatlösung völlig ausgefällt, das Filtrat gab dann keine von den Farbstoffreaktionen mehr. Der Niederschlag wurde mehrfach nach dem Abfiltrieren mit frischer schwefelsaurer Quecksilbersulfatlösung gewaschen, und um sie möglichst von der Mutterlauge zu befreien, auf Tonplatten gestrichen. Den Niederschlag verteilten wir in Wasser und setzten so lange aufgeschlemmtes Bariumcarbonat zu, bis Kongopapier sich nicht mehr blau färbte. Hierauf wurde der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, nach der Zerlegung, die 6 bis 8 Stunden beanspruchte, filtriert, das Filtrat mit Kohlensäure vom Schwefelwasserstoff befreit; die Flüssigkeit gibt dann auf das deutlichste die Reaktion mit Nitroprussidnatrium. Nun wird die Flüssigkeit im Vakuum unter Durchleiten von Wasserstoffgas auf ein kleines Volumen

eingeengt; es empfiehlt sich, Wasserstoff durchzuleiten, weil sich sonst die Lösung — wie wir beobachtet haben — rasch schwärzt und einen flockigen Niederschlag absetzt, der in Wasser unlöslich ist und die Nitroprussidnatriumprobe nicht mehr gibt. Beim bloßen Eindampfen auf dem Wasserbade schwärzt sich die Lösung ebenfalls unter Bildung eines Niederschlages, und die Nitroprussidnatriumreaktion kann auf diese Weise allmählich verschwinden. Man sieht also aus diesem Versuch, wie bloßes Erwärmen, oder bloßes Exponieren an der Luft genügt, um dieses Melanogen wahrscheinlich in Melanin zu verwandeln.

Wir haben die Erfahrung gemacht, daß man mit Quecksilbersulfat bei einer Fällung durchaus noch nicht eine reine Substanz erhält, sondern die Fällung wiederholen muß. Man löst die im Vakuum eingeengte Flüssigkeit wieder in destilliertem Wasser, fällt neuerdings mit der schwefelsauren Lösung von Quecksilberoxydsulfat, behandelt wie oben beschrieben, zerlegt mit Schwefelwasserstoff und engt, nachdem man Kohlensäure durchgeleitet, um das Filtrat von Schwefelwasserstoff zu befreien, dieses im Wasserstoffstrome im Vakuum ein. Es ist sehr zweckmäßig, dieses Verfahren noch ein drittes Mal durchzuführen. Schließlich wird das Filtrat im Vakuum völlig eingeengt, und man erhält einen Krystallbrei, der sich mikroskopisch als inhomogen erweist, so daß verschiedene Substanzen hier vorliegen. Die Krystalle geben alle oben beschriebenen Reaktionen, ferner sahen wir noch, daß eine wässerige Lösung bei Versetzen mit etwas Glyoxylsäure und beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure an der Berührungsstelle eine indigoblaue Färbung gibt. Der blaue Ring breitet sich aus und verleiht allmählich der ganzen Lösung diesen Farbenton. Man erinnere sich, daß Tryptophan ein ähnliches Verhalten zeigt. Versetzt man eine frische Lösung dieser Krystalle mit einigen Tropfen einer 4 %igen Formaldehydlösung und gibt konz. Schwefelsäure hinzu, so erhält man ebenfalls eine intensiv blaurote Färbung. Bei der trockenen Destillation geben diese Krystalle eine überaus deutliche Pyrrolreaktion mit einem in Salzsäure getauchten Fichtenspan. Die Krystalle wurden nun ein drittes Mal mit einer schwefelsauren Lösung von schwefelsaurem Quecksilberoxyd gefällt, und nach scharfem Absaugen der Quecksilberverbindung und Trocknen auf der Tonplatte

wurden sie diesmal nicht mit Schwefelwasserstoff, sondern mit einer frisch bereiteten Lösung von Schwefelammon zerlegt. Nachdem sich das Schwefelquecksilber abgeschieden, wurde das Filtrat in einer Krystallisierschale in einem Vakuumexsiccator zur Trockne gebracht, hierauf mit wenig Wasser vom ausgeschiedenen Schwefel getrennt, die wässerige Lösung wieder im Vakuum zur Trockne gebracht und der resultierende Krystallbrei mit Methylalkohol aufgenommen, dabei geht ein Teil in Lösung; die methylalkoholische Lösung wird abfiltriert und mit Äther gefällt. Es fällt ein weißer Körper rasch zu Boden; mikroskopisch erweist er sich als ein dichtes Gefüge von feinsten Nadeln. Er wird im absoluten Vakuum über konz. Schwefelsäure und etwas Paraffin getrocknet. Die Substanz ist enorm hygroskopisch und verwandelt sich mit Wasser bald in ein schwarzes Öl. Die Krystalle gaben alle die oben beschriebenen Reaktionen, wie die mit Eisenchlorid, Bromwasser, Chromsäure, also die Oxydationsreaktionen, die Probe mit Nitroprussidnatrium, ferner die Proben auf den Pyrrolring mit Glyoxylsäure, sowie mit dem Fichtenspan, hingegen gab sie von den früher im Harne beobachteten Proben weder die Reaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd noch mit Diazobenzolsulfosäure, auch mit Natriumnitrit und mit Salzsäure erhält man keine Rotfärbung mehr. Es liegen hier im nativen Harne also zwei differente, wahrscheinlich aber genetisch zusammenhängende Substanzen vor. Unsere isolierte Substanz ist löslich in Wasser, in Methylalkohol, Äthylalkohol, unlöslich in Äther, sie beginnt um 180° C zu verkohlen, ohne zu schmelzen. Für die Analyse wurde sie bei gewöhnlicher Temperatur im absoluten Vakuum über Schwefelsäure und Paraffin getrocknet. Leider war die Ausbeute keine so große, daß wir für Doppelbestimmungen genügende Substanz gehabt hätten. Die zahlreichen Bestimmungen verschiedener Elemente geben aber ein durchaus eindeutiges Resultat.

Bei der Elementar-Analyse gaben 0,1809 g Substanz 0,1983 g Kohlensäure und 0,0793 g Wasser; im Schiffchen fand sich ein Ascherückstand von 0,0084 g.

Die N-Bestimmung nach Dumas: 0,1178 g gaben 11,8 ccm Stickstoff bei T 25 und B 744 mm.

Die S-Bestimmung (nach Pringsheim mit Natriumperoxyd verbrannt):

0,1057 g Substanz gaben 0,1078 g Bariumsulfat = 14,01 % S; auf aschefreie Substanz gerechnet, ergeben sich also

C 31,30 %, H 5,13 %, N 11,78 %, S 14,4 %, O 37,38 %.

Für die Formel

$$C_6H_{12}N_2SO_4$$

berechnen sich

C 31,1, H 5,34, N 12,4, S 14,3.

Die große Menge Wasserstoff führte auf die Vermutung, daß diese Substanz wahrscheinlich methyliert ist. Die Methylimidbestimmung nach J. Herzig und H. Meyer: 0,1947 g Substanz gaben 0,2080 g Jodsilber. Da sich Schwefelsilber durch Reduktion mitgebildet hatte und wir damals noch keine Schwefelbestimmung durchgeführt hatten, wurde das Jodsilber öfters mit heißer Salpetersäure gewaschen. Der gefundene Jodsilberwert ergab 6,82 % Methyl oder 0,0137 g Methyl. Für eine Methylgruppe berechnen sich 6,69 % Methyl. Aus dem niedrigen Kohlenstoffwert von sechs Kohlenstoffen auf zwei Stickstoffe war nun zu ersehen, daß das Indolringsystem nicht mehr als solches vorhanden sein kann. Da nun die Blaureaktion mit Nitroprussidnatrium dem Indol zukommt, so war es für uns von höchstem Interesse zu untersuchen, ob das Pyrrolringsystem für sich die gleiche Reaktion zeigt.

Nimmt man unverdünntes Pyrrol und stellt damit die Nitroprussidreaktion an, so geht das zuerst gebildete Blau rasch in ein schmutziges Grün über, bei ganz verdünnten Pyrrollösungen hält sich aber der tiefblaue Farbenton in gleicher konstanter Weise wie bei reinem Indol. Es ist daher anzunehmen, daß diese Farbenreaktion in letzter Linie auf dem Pyrrolring beruht.

Über die Rolle des zweiten Stickstoffes in der Verbindung belehren uns folgende Versuche. Es war die Möglichkeit vorhanden, daß es sich um ein Ammonsalz handelt, andererseits konnte es sich um ein Säureamid handeln. Da die Substanz beim bloßen Übergießen mit Kalilauge kein Ammoniak entwickelte, so war ein Ammonsalz ausgeschlossen. Beim Erhitzen mit Kalilauge aber spaltete sich Ammoniak ab, was sehr für eine säureamidartige Verbindung des zweiten Stickstoffes spricht, während ein Stickstoffatom sicherlich nach allen Reaktionen

einem Pyrrolringsystem angehört, das am Stickstoff methyliert ist. Der Schwefel ist sehr wahrscheinlich, nach dem Sauerstoffreichtum der Substanz zu schließen, in Form einer Ätherschwefelsäure vorhanden, und der sechste Kohlenstoff dürfte einer Carboxylgruppe angehören. Es ist nun fraglich, ob die Carboxylgruppe oder die Schwefelsäure mit dem Amidrest verbunden ist. Die hohen Wasserstoffzahlen sprechen dafür, daß das ursprüngliche Pyrrolringsystem durch Reduktion im Organismus in ein Pyrrolidinringsystem übergegangen und die Elementar-Analysen weisen darauf hin, daß diese Substanz eine N-Methylpyrrolidinoxycarbonsäure ist, die in Form einer Ätherschwefelsäure an der einen oder anderen sauren Gruppe amidiert ist. Da die β-Stellung für die Oxydation des Indols sehr disponiert, so ist anzunehmen, daß so wie beim Übergang des Indols in Indoxyl im Organismus auch das Pyrrolidin in Oxypyrrolidin in der β-Stellung vor sich gegangen ist. Leider waren wir nicht in der Lage, alle notwendigen Konstitutionsermittlungen, die zur physiologischen Klärung dieser Frage uns als unerläßlich erscheinen, bis nun durchzuführen, und sobald wir über größere Substanzmengen verfügen, werden wir dieses nachholen, so daß wir vorläufig unsere Anschauungen über die Konstitution dieser Substanz nur auf das hier vorgebrachte Material stützen können.

Für die Beurteilung der ganzen Frage erscheint es uns von Interesse, daß in der ätherischen Mutterlauge die Nitroprussidprobe noch immer etwas positiv ausfiel. Ebenfalls war in der Mutterlauge die Reaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd stark positiv, während unsere analysierte Substanz die letztere Reaktion, wie bereits erwähnt, nicht mehr gab. Die ätherische Mutterlauge schwärzte sich beim Eindampfen und gab mit Oxydationsmitteln dieselben Reaktionen wie der native Harn, weshalb wir annehmen müssen, daß neben dem von uns isolierten Körper noch ein zweiter in den Harnen bei Melanurie auftritt, die beide genetisch zusammenhängen und beide Pyrrolabkömmlinge und Tryptophanabkömmlinge sind. Wir bleiben mit der Isolierung dieser zweiten Substanz beschäftigt und werden über sie berichten.

Es war für uns von großem Interesse zu erweisen, wieviel von der Substanz ausgeschieden wird und welche Eiweißabkömmlinge eine Vermehrung des Melanogens bewirken und

welche nicht. Da der Farbenton bei der Berlinerblaureaktion ein ziemlich konstanter ist und sehr lange Zeit hindurch seine Intensität behält, so haben wir ein Verfahren ausgearbeitet, um colorimetrisch die Substanz zu bestimmen. Als Standardtestlösung bedienten wir uns einer Indollösung von bekannter Konzentration.

Das Verfahren ist folgendermaßen durchzuführen. 5 ccm Harn, resp. die gleiche Menge Indollösung werden mit 5 ccm einer konz. wässerigen Lösung von frisch bereitetem Nitroprussidnatrium in einer Meßflasche von 500 ccm vermengt, dann 5 ccm 10%ige Kalilauge und 5 ccm Essigsäure zugesetzt. Beide Lösungen werden dann auf 500 ccm mit Wasser aufgefüllt und im Colorimeter gegeneinander bestimmt. Als Colorimeter benützen wir den großen Apparat von Dubosq in Paris.

Datum	Menge	Indol	Zugeführt:
10. V.	480	0,834	Fleischkost
11. „	500	0,780	do.
12. „	500	0,825	do.
13. „	300	0,552	wenig Fleisch
14. „	500	1,667	do., plus 1,5 g Tryptophan
15. „	300	0,567	wenig Fleisch
16. „	400	0,202	erbricht viel
17. „	300	0,324	vorwiegend Milch
18. „	500	0,432	ungefähr do.
19. „	600	0,332	do., plus 3 g Phenylalanin
20. „	500	0,249	erbricht viel
21. „	400	0,342	erbricht, plus 2 g Tyrosin
22. „	300	0,324	Milchkost
23. „	200	0,300	do.
24. „	340	1,540	do., plus 1,5 g Tryptophan
25. „	450	0,328	Milchkost
26. „	500	0,200	fast nur Zucker
27. „	300	0,349	Milch, Erbrechen
28. „	350	0,289	Erbrechen
29. „	200	0,300	do.
30. „	100	0,456	rascher Verfall
31. „	100	0,345	—
1. VI.	100	0,654	fast vollkommene Inanition
2. „	100	0,574	Exitus
3. „	—	—	—
Harn der Leiche entnommen	300	0,678	

Diese Zahlen zeigen uns, wenn wir auch keine absoluten Werte auf diese Weise erfahren, daß die Intensität der Reaktion mit Nitroprussidnatrium abhängig ist von der zugeführten Nahrung, und daß bei Fleischkost die relativ größten Mengen erscheinen, während Kohlenhydratkost eine Einschränkung der Bildung dieser Substanz ergibt.

Entscheidend in der ganzen Frage ist die in dieser Tabelle niedergelegte Beobachtung, daß Tryptophan die Ausscheidung des Melanogens auf das 3fache steigert, während Tyrosin und Phenylalanin sie ganz unbeeinflußt lassen.

Gegen den Schluß des Lebens hin, bei zunehmender Kachexie steigt der Wert für die Pyrrolsubstanz, das Melanogen, ebenfalls stark, was wahrscheinlich mit einem prämortalen gesteigerten Zerfall von Körpereiweiß zusammenhängt. Leider wurde es verabsäumt, die entsprechenden Stickstoffwerte festzustellen.

Wir sehen bei diesen Ermittlungen, daß der Organismus bei der Melanurie im Gegensatze zu dem Verhalten bei der Alkaptonurie den Benzolring zu oxydieren vermag, daß er aber nicht imstande ist, den Pyrrolring zu zerstören, aber sehr verschiedene chemische Veränderungen an ihm vornimmt, die Reduktion, die Methylierung[1]) und die Einführung einer Hydroxylgruppe, Paarung mit Schwefelsäure und Amidierung.

Die so gebildete Substanz ist nun ein Farbstoffbildner und geht leicht unter Kondensation, bei gleichzeitiger Oxydation

[1]) Es ist physiologisch von großem Interesse, daß hier ein neuer Fall von Methylierung im Organismus vorliegt. Bekanntlich hat His im Schmiedebergschen Laboratorium zuerst die Methylierung von Pyridin beobachtet, dann verdanken wir Hofmeister weitere Studien über diese Frage, der aus telluriger und seleniger Säure Tellurmethyl und Selenmethyl erhielt.

Neuberg und Großer*) verfütterten Diäthylsulfid an einen Hund und erhielten Diäthylmethylsulfoniumhydroxyd. Hildebrandt beobachtete eine Methylierung bei Verfütterung eines Kondensationsproduktes aus Piperidin, Thymol und Formaldehyd. Kaninchen vermögen durch Methylierung Guanidinessigsäure in Kreatin zu verwandeln.**) Schließlich haben S. Fränkel und Walter Halle gezeigt, daß der Übergang von Tyrosin in Adrenalin unter Methylierung sich im Organismus vollzieht.

*) Centralbl. f. Physiol. 19, 316, 1905.

**) Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 430, 1906.

in einen schwarzen Farbstoff über, ähnlich wie Anilin in Anilinschwarz.

Aus der Tatsache, daß in vielen Fällen von Melanosarkomatose der Harn nicht die Eigenschaft zeigt, sich mit Oxydationsmitteln zu schwärzen und die Nitroprussidnatriumreaktion zu geben, kann man noch nicht den Schluß ziehen, daß er überhaupt noch die Fähigkeit hat, den Pyrrolring aufzuspalten.

Wir möchten aber im Anschlusse an unsere Befunde auf die Untersuchungen von Stoeber und Wacker[1]) hinweisen, die gezeigt haben, daß Indol oder Skatol, also ebenfalls Körper, die den Pyrrolring neben dem Benzolring enthalten, subcutan einverleibt imstande sind, das Epithel der Haut in Wucherung zu versetzen, so daß sich diese Stellen ähnlich verhalten wie manche Hauttumoren. Diese Forscher sind geneigt, die Ursache, die das Zellsystem aus dem Gleichgewicht bringt, darin zu suchen, daß im Überschuß vorhandene Eiweißspaltungsprodukte, vielleicht durch Fäulnis entstandene, wie Indol und Skatol, von der wachsenden Zelle verankert werden und daß eine solche Zelle mit solchen abnormen Eiweißzerfallprodukten beladen, pathologisch wuchern kann. In Analogie zu dieser Hypothese könnte man sich vorstellen, daß der Organismus vielleicht infolge einer Disposition die Fähigkeit verloren hat, gewisse Ringsysteme, wie in diesem Falle das Indolringsystem, völlig aufzuspalten, so daß der Pyrrolring erhalten bleibt, welche Ringsysteme im Organismus zirkulierend gewisse Zellgruppen zu atypischem Wachstum anregen können, die schließlich zu Tumoren werden. Ein eingehenderes experimentelles Studium dieser Verhältnisse in analogen Fällen kann erst unsere Erwägungen stützen. Vielleicht führen solche chemischen Untersuchungen dazu, Licht auf die Pathogenese solcher Tumoren zu werfen.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1900, Nr. 18.

Beiträge zur allgemeinen Eiweißchemie.

II. Mitteilung.

Über die Fällung der Globuline im isoelektrischen Punkt.

Von

P. Rona und L. Michaelis.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 18. August 1910.)

Die früher beschriebene Feststellung des Koagulationsoptimums im isoelektrischen Punkt wurde an denaturiertem Albumin ausgeführt.[1]) Das genuine Serumalbumin flockt nicht im isoelektrischen Punkt aus. Durch Überführungsversuche gelingt hingegen die Bestimmung der isoelektrischen Konstante in gleicher Weise beim denaturierten und beim genuinen Albumin und führt zu denselben Resultaten wie die an denaturiertem Eiweiß ausgeführten Bestimmungen des optimalen Koagulationspunktes. Eine Reihe von Eiweißkörpern, mit denen wir uns in dieser Arbeit befassen, haben dagegen die Eigenschaft, bei einer ganz bestimmten Acidität auch im genuinen Zustand auszufallen. Es entstand daher die Frage, ob auch bei diesen Eiweißkörpern das Flockungsoptimum mit der isoelektrischen Wasserstoffionenkonzentration zusammenfällt.

Eiweißkörper, die den erwähnten Bedingungen genügten, fanden wir im Serumglobulin, Edestin, Gliadin und Casein. Es ergab sich nun in der Tat, daß der in Überführungsversuchen festgestellte isoelektrische Punkt und die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Koagulationsoptimums im genuinen Zustande in befriedigender Weise übereinstimmen. Die erwähnten Eiweißkörper unterscheiden sich demnach gegenüber dem Albumin in einer ihnen

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 27, 38, 1910.

gemeinsamen, sehr charakteristischen Eigenschaft, die, wie leicht ersichtlich, in Zusammenhang steht mit ihrer Zugehörigkeit zu einer großen Gruppe von Eiweißkörpern, den Globulinen.

Die Definition der Globuline ist bisher nicht sehr scharf. Man versteht darunter Eiweißkörper, die „in der Regel“ im salzfreien Wasser unlöslich sind und daher bei der Dialyse ausfallen, oder diejenigen, die in ganz schwach alkalischer Lösung „meistens“ von Kohlensäure gefällt werden, oder die durch Sättigen mit NaCl oder $MgSO_4$, oder durch Halbsättigen mit Ammonsulfat „je nach der Art des Globulins teilweise oder vollständig“ gefällt werden. Diese Eigenschaften decken sich aber keineswegs immer miteinander; so entsteht z. B. in einem durch Dialyse von „Globulin“ befreiten Serum durch Sättigen mit $MgSO_4$ noch eine Fällung usw.

Das Gemeinsame aller dieser Einteilungsprinzipien beruht darauf, daß die Globuline unter manchen Bedingungen gefällt werden, unter denen die Albumine gelöst bleiben, während das Umgekehrte niemals der Fall ist. Die in vorliegender Untersuchung festgestellte optimale Koagulation im isoelektrischen Punkt bestimmt nicht nur diese Bedingungen ganz scharf, sondern führt diese auch auf wesensinnere Eigenschaften der betreffenden Körper zurück. Nach dieser schärferen Definition wären als Globuline zu definieren diejenigen denaturierbaren Eiweißkörper, die im genuinen Zustand bei ihrer isoelektrischen $H^{\cdot}$-Konzentration aus ihrer Lösung ausfallen, während die Albumine im genuinen Zustande unabhängig von der $H^{\cdot}$-Konzentration stets löslich sind und erst im denaturierten Zustande im isoelektrischen Punkt ihr Fällungsoptimum haben. Das andere Hauptcharakteristikum der Globuline: Unlöslichkeit in Wasser, Löslichkeit in verdünnten Neutralsalzlösungen usw. ging bei den von uns untersuchten Eiweißkörpern mit der obigen Eigenschaft stets parallel; in dieser Hinsicht entstand kein Konflikt mit der älteren Definition der Globuline.

Hat man daher einen Eiweißkörper in Lösung, so wird man, indem man den Gesamtelektrolytgehalt konstant hält, die $H^{\cdot}$-Konzentration nach den von uns früher entwickelten Prinzipien variieren und beobachten, ob bei irgend einer $H^{\cdot}$-Konzentration eine Flockung eintritt. Handelt es sich um ein Globulin, so wird man nicht nur eine Flockungszone

feststellen können, sondern sogar genau diejenige H˙-Konzentration, die dem **Optimum** der Flockung entspricht.

Wie oben bereits erwähnt wurde, zeigten die Überführungsversuche, daß dieses Flockungsoptimum mit dem isoelektrischen Punkt zusammenfällt und daher dieselbe theoretische Bedeutung wie bei den Albuminen hat. Ist nämlich $[H^{\cdot}]_{opt}$ die für die Flockung günstigste H˙-Ionenkonzentration der Lösung, I die isoelektrische Konstante des Eiweißkörpers, R die relative Aciditätskonstante, k_w die Dissoziationskonstante des Wassers, so ist

$$[H^{\cdot}]_{opt} = I$$

und

$$R = \frac{I^2}{k_w}.$$

Als **Serumglobulin** benutzten wir entweder durch Dialyse oder mittels Einleiten von CO_2 in Pferdeserum gewonnenes Globulin. In einer Reihe von Versuchen wurde auch unaufgekochtes, fünffach mit Wasser verdünntes Serum von Pferd, Mensch, Meerschweinchen benutzt. Ein Niederschlag, der in genuinem Serum durch Ansäuerung entsteht, enthält ja nur Globulin. Fast stets, regelmäßig aber im letzten Falle, bei Verwendung von undialysiertem Serum wurde die H˙-Ionenkonzentration der optimalen Flockung auch durch Konzentrationsketten bestimmt,[1] da die aus den zugefügten Regulatorgemischen berechneten Werte in Flüssigkeiten mit Eigenregulatoren mit den direkt festgestellten nicht vollkommen übereinstimmen können.[2]

---

[1]) Die Konzentrationsketten hatten die Anordnung: Kalomel-Elektrode ($^n/_{10}$-KCl). Gesättigte KCl-Lösung die zu prüfende Flüssigkeit, PtH_2. Das Kontaktpotential war praktisch Null. Die Potentialdifferenz der Kalomel-Elektrode gegen die Normal-H˙-Elektrode wurde als 0,337 Volt in Rechnung gebracht. Bezüglich der **Technik** der Konzentrationsketten könnten wir über manche Erleichterung und Vereinfachung berichten. Da jedoch in dem **Resultat** und in der **Genauigkeit** dadurch sich nichts ändert, so verschieben wir dieses auf einen geeigneteren Ort, nämlich den 5. Band des Handbuchs der Bioch. Arbeitsmethoden von **Abderhalden**.

[2]) Ganz besonders und mit aller Schärfe betonen wir dagegen, daß bei Verwendung dialysierter oder von Hause aus salzarmer Eiweißlösungen die berechnete und die direkt gemessene H˙-Konzentration sich stets deckte.

Versuche mit Globulin.

Die definitive Konzentration des Globulins beträgt in allen Versuchen weniger als $^1/_2{}^0/_{00}$. Die Versuchsprotokolle sind verkürzt wiedergegeben (vgl. Band 27, S. 38).

1. Serumglobulin (durch Einleiten von CO_2 in Pferdeserum gewonnen) in $^n/_2$-Natriumacetat gelöst. Optimale Flockung bei 2 Teilen $^n/_2$-Natriumacetat, 1,06 Teilen $^n/_{10}$-Essigsäure. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:6,3, d. h. $[H^{\cdot}] = 0{,}29 \cdot 10^{-5}$. Der Gesamtelektrolytgehalt wurde in allen Versuchen konstant gehalten. In den meisten Fällen war die Konzentration des Gemisches $^1/_{30}$ n in bezug auf Natriumacetat.

2. Dieselbe Globulinlösung aufgekocht. Flockung ebenda. Berechnet $[H^{\cdot}] = 0{,}29 \cdot 10^{-5}$, gemessen $0{,}42 \cdot 10^{-5}$.

3. Globulin (aus Hammelserum durch Dialyse gewonnen), in $^n/_{10}$-Natriumacetat gelöst. Optimale Flockung bei 3 Teilen $^n/_{10}$-Natriumacetat, 0,5 Teilen $^n/_{10}$-Essigsäure. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:6, d. h. $[H^{\cdot}] = 0{,}30 \cdot 10^{-5}$.

4. Globulin (aus Hammelserum durch Dialyse gewonnen), in $^n/_{10}$-Natriumacetat gelöst. Optimale Fällung bei 5 Teilen $^n/_{10}$-Natriumacetat, 1,3 Teilen $^n/_{10}$-Essigsäure. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:3,8, d. h. $[H^{\cdot}] = 0{,}47 \cdot 10^{-5}$.

5. Globulin (aus Pferdeserum durch Dialyse gewonnen), in $^n/_{10}$-Natriumacetat gelöst. Optimale Fällung bei 5 Teilen $^n/_{10}$-Natriumacetat und 1,3 Teilen $^n/_{10}$-Essigsäure. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:3,8, d. h. $[H^{\cdot}] = 0{,}47 \cdot 10^{-5}$.

6. Unaufgekochtes Pferdeserum, mit Acetatgemischen von verschiedener $H^{\cdot}$-Konzentration versetzt. Optimale Flockung bei $0{,}42 \cdot 10^{-5}$ (gemessen).

7. Unaufgekochtes Menschenserum, mit Acetatgemischen von verschiedener $H^{\cdot}$-Konzentration versetzt. Optimale Flockung bei $0{,}36 \cdot 10^{-5}$ (gemessen).

8. Unaufgekochtes Menschenserum, mit Acetatgemischen von verschiedener $H^{\cdot}$-Konzentration versetzt. Optimale Flockung bei $0{,}29 \cdot 10^{-5}$ (gemessen).

9. Unaufgekochtes Meerschweinchenserum, mit Acetatgemischen von verschiedener $H^{\cdot}$-Konzentration versetzt. Optimale Flockung bei $0{,}28 \cdot 10^{-5}$ (gemessen).

Von den Überführungsversuchen sei von vielen übereinstimmenden Versuchen als Beispiel einer angeführt.

Globulin durch Dialyse aus Pferdeserum gewonnen.

Essigsäure / Natriumacetat	Konzentration	Anode	Kathode
$\frac{1}{1}$	$^{n}/_{30}$	0	+
$\frac{1}{3}$	$^{n}/_{30}$	+	+
$\frac{1}{6}$	$^{n}/_{30}$	+	0
$\frac{1}{9}$	$^{n}/_{30}$	+	0

Aus der Gesamtheit dieser Versuche geht hervor, daß die isoelektrische Konstante des Serumglobulins mit der des Serumalbumins übereinstimmt und bei zirka $0{,}3 \cdot 10^{-5}$ liegt. Das Mittel der einzelnen Fällungsoptima ist $0{,}36 \cdot 10^{-5}$. Unterschiede bei den Serumglobulinen verschiedener Tierarten konnten nicht aufgefunden werden.

Versuche mit Casein[1]).

10. 50 mg Casein (Hammarsten) wurden in 20 ccm $^{n}/_{2}$-Natriumacetat gelöst. Optimale Fällung bei 1 Teil $^{n}/_{2}$-Acetat und 1 Teil $^{n}/_{2}$-Essigsäure. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:1 ($1{,}8 \cdot 10^{-5}$).

11. 50 mg Casein wurden in 20 ccm $^{n}/_{2}$ lävulinsaurem Natrium gelöst. Optimale Flockung bei 1 Teil $^{n}/_{2}$-Lävulinat und 2,06 Teilen $^{n}/_{10}$-Lävulinsäure. Verhältnis Lävulinsäure zu lävulinsaurem Natrium 1:1,6 ($1{,}5 \cdot 10^{-5}$).

12. 0,6 g Casein wurden in 100 ccm $^{n}/_{2}$-Essigsäure gelöst (kurz aufgekocht). Optimale Flockung (bei $^{n}/_{20}$-Konzentration des Gemisches) bei 1 Teil Essigsäure, 1 Teil Natriumacetat. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:1.

13. Bei einer $^{n}/_{6}$-Konzentration wurde die optimale Flockung ebenfalls bei einem Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1:1 gefunden.

---

[1]) Casein wird nicht als Nucleoalbumin, sondern richtiger als „Phosphoglobulin" bezeichnet (vgl. Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper. 2. Aufl. S. 190), wofern man überhaupt einen durch Hitze nicht denaturierbaren Eiweißkörper zu den Globulinen rechnen will.

14. Caseinlösung in $^n/_1$-Natriumacetat gelöst. Optimale Fällung bei 1 Teil $^n/_{10}$-Natriumacetat und 1,12 Teilen $^n/_{10}$-Essigsäure. Verhältnis Essigsäure zu Acetat 1,12:1.

Von den Überführungsversuchen sei nur ein Beispiel angeführt:

[H˙]	Essigsäure / Natriumacetat	Konzentration	Anode	Kathode
$9 \cdot 10^{-5}$	$\frac{5}{1}$	$^n/_{10}$	0	+
$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$\frac{2}{1}$	$^n/_{10}$	Spur	Spur
$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$\frac{1}{2}$	$^n/_{10}$	+	Spur
$0{,}6 \cdot 10^{-5}$	$\frac{1}{3}$	$^n/_{10}$	+	0

Die isoelektrische Konstante des Caseins liegt demnach bei ca. $1{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Versuche mit Gliadin.

15. Gliadin zu 1% wird in $^n/_{10}$-NH_3 gelöst. Maximale Flockung bei 2 Teilen $^n/_{10}$-NH_3 und 1 Teil $^n/_{10}$-HCl. Eine Wiederholung des Versuches ergab genau dasselbe Resultat.

16. Gliadin in $^n/_{10}$-NH_3 gelöst (zu 1%). Maximale Fällung bei 2 Teilen $^n/_{10}$-NH_3 und 1 Teil $^n/_{10}$-HCl. Bei Wiederholung des Versuches ergab die Messung der optimalen H˙-Ionenkonzentration mittels Konzentrationsketten $7{,}5 \cdot 10^{-10}$, $4{,}4 \cdot 10^{-10}$, $5{,}8 \cdot 10^{-10}$.

Es ist bemerkenswert, daß bei den Reihenversuchen mit zunehmenden HCl-Mengen bei höheren HCl-Konzentrationen eine neuerliche Fällung auftritt, nachdem bereits in den vorhergehenden Röhrchen vollständig klare Lösung zu beobachten war. Dies ist auf die Bildung eines in Überschuß von HCl unlöslichen Hydrochlorates zurückzuführen. Die Zurückdrängung der Dissoziation in diesem Falle ist auch aus den Überführungsversuchen ersichtlich.

Überführungsversuch. Gliadin in $^n/_{30}$-NH_3 gelöst. (Seitenflüssigkeit $^n/_{30}$-NH_3.) Wanderung: anodisch. — Gliadin in $^n/_{30}$-$ClNH_4$ gelöst. (Seitenflüssigkeit $^n/_{30}$-$ClNH_4$.) Wanderung: kathodisch. — Gliadin in $^n/_{10}$-NH_3 gelöst mit der 10fachen

Menge $^n/_{10}$-HCl versetzt. (Seitenflüssigkeit $^n/_{10}$-HCl.) Keine Wanderung.

Die isoelektrische Konstante unseres Gliadins liegt demnach bei ca. $5{,}9 \cdot 10^{-10}$.

Versuche mit Edestin.

17. Edestin (von Herrn Abderhalden freundlichst uns überlasssen) in $^n/_{10}$-Phosphorsäure gelöst (zu 1%)[1]. Optimale Flockung liegt bei 1 Teil $^n/_{10}$-Phosphorsäure und 1,55 Teilen $^n/_{10}$-NaOH (entsprechend 0,55 sekundäres und 0,45 primäres Natriumphosphat). Für die optimale H'-Konzentration: Berechnet $1{,}6 \cdot 10^{-7}$, gefunden $1{,}3 \cdot 10^{-7}$.

Überführungsversuch. Edestin in $^n/_{30}$ primärem Natriumphosphat gelöst; Wanderung: kathodisch. — Edestin in $^n/_{30}$ sekundärem Natriumphosphat gelöst; Wanderung: anodisch.

Die isoelektrische Konstante des Edestins liegt demnach bei ca. $1{,}3 \cdot 10^{-7}$.

Übersicht über die gewonnenen Konstanten (sämtlich für 18° C).

(Mittel aus den einzelnen Versuchen.)

	Isoelektrische Konstante I	Relative Acididäts-konstante R
Serumalbumin der Säugetiere	$0{,}31 \cdot 10^{-5}$	$1{,}6 \cdot 10^{+3}$
Serumglobulin der Säugetiere	$0{,}36 \cdot 10^{-5}$ [2]	$2{,}2 \cdot 10^{+3}$ [2]
Casein aus Kuhmilch . .	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$5{,}4 \cdot 10^{+4}$
Gliadin	$6{,}0 \cdot 10^{-10}$	$6{,}0 \cdot 10^{-5}$
Edestin	$1{,}3 \cdot 10^{-7}$	$2{,}8 \cdot 10^{+0}$

[1] Da nur ein geringer Bruchteil des Präparates gelöst wird, beträgt der definitive Eiweißgehalt der Lösung sehr erheblich weniger als 1%. Genauere Angaben sind nicht von Belang; sie wurden in verschiedenen Versuchen variiert, ohne daß sich am Resultat etwas änderte. Dasselbe gilt auch oben vom Gliadin. Wie überall, kommt es auch hier nur darauf an, durch Probieren diejenige Eiweißmenge zu finden, die einerseits noch gute Flockungen liefert, andererseits nicht so dick koaguliert, daß das Koagulationsoptimum verwaschen wird.

[2] Diese Zahl ist mit der des Serumalbumins als innerhalb der Fehlerquellen identisch anzunehmen.

Über die Ausscheidung von organisch gebundenem Phosphor im Harn.

Von

Kura Kondo (Tokio).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 10. August 1910.)

I.

Seitdem Ronalds[1]) im Jahre 1846 zuerst die Anwesenheit kleiner Mengen organisch gebundenen Phosphors im Harn bemerkt hat, sind von verschiedener Seite Angaben über Natur und Menge dieser Phosphorverbindung gemacht worden, die jedoch so wenig zu einer Klärung geführt haben, daß von einzelnen Autoren bis in die letzten Jahre die normale Ausscheidung von organisch gebundenem Phosphor im Harn überhaupt bestritten wird.

Nachstehend seien die wichtigsten einschlägigen Untersuchungen, soweit sie sich auf normale Verhältnisse beziehen und zu quantitativen Angaben geführt haben, mitgeteilt.

Lépine und Eymonnet[2]) fällten die anorganische Phosphorsäure im Harn mit Magnesiamixtur und bestimmten im Filtrat den organisch gebundenen Phosphor als Phosphormolybdat durch Wägung. Sie fanden so in einem Liter Menschenharn ca. 15 mg Glycerinphosphorsäure (= 0,0062 P_2O_5), im Hundeharn absolut und relativ mehr.

Zuelzer[3]) bestimmte die Phosphorsäure vor und nach dem Kochen mit Salpetersäure durch Fällung mit Magnesia-

---

[1]) Ronalds, Philosophical transactions 1846, 463.

[2]) Lépine und Eymonnet, Compt. rend. Soc. Biol. 1882, 622.

[3]) Zuelzer, Untersuchungen zur Semiologie des Harns. Berlin 1884.

mixtur und Titration der Phosphorsäure im Niederschlag mit Uranacetat oder nach Stolba. Bei einem gesunden jungen Mann betrug in einer Reihe von Versuchen die Menge der organisch gebundenen Phosphorsäure 0—5% der Gesamtphosphorsäure, im Mittel 2,4%. Beim Hund wurde das Prozentverhältnis bei verschiedener Fütterung zu 0,18 bis 7,2, im Mittel zu 3,3% gefunden.

K. Bülow[1]) fand im Tagesharn eines großen Hundes nach Entfernung aller durch Magnesiamixtur fällbaren Phosphorsäure noch 0,0061 g durch Säure abspaltbare Phosphorsäure (= 0,0045 g P_2O_5).

Pasqualis[2]) hingegen vermochte im Menschenharn bei Anwendung verschiedener Methoden keine oder nur eine zweifelhafte Spur organisch gebundener Phosphorsäure aufzufinden. Ebenso kam P. Marcuse[3]) zu dem Schluß, daß im Hundeharn organisch gebundene Phosphorsäure nicht in wesentlicher Menge vorkommt. Vergleicht man jedoch die von ihm durch Urantitrierung vor und nach dem Schmelzen mit Salpeter ermittelten Werte, so ergibt sich stets ein Plus nach dem Schmelzen von 1,6 bis 4,8%, im Mittel von 2,5%.

H. Oertel[4]) bestimmte die Phosphorsäure im Harn von 7 gesunden Individuen nach Schmelzen mit Ätzkali und Salpeter als Pyrophosphat einerseits vor, andrerseits nach Ausfällung mit Chlorcalcium und Ammoniak. Die Menge der organisch gebundenen Phosphorsäure ergab sich dabei, als P_2O_5 berechnet, zu 0,030 bis 0,1200 pro Tag und betrug 1,6 bis 4,8, im Mittel 2,5% der Gesamtphosphorsäure.

Keller[5]) untersuchte den Harn von kranken und gesunden Säuglingen. Er bestimmte die Phosphorsäure als Pyrophosphat vor und nach Veraschung mit Neumanns Säuregemisch und fand in 12 Versuchen 0,0022 bis 0,0167 organisch gebundenes P_2O_5 in der Tagesmenge. Das Prozentverhältnis war 0,51 bis 9,9%, im Mittel 4,25.

---

[1]) K. Bülow, Pflügers Archiv 57, 89, 1894.
[2]) G. Pasqualis, Annali di chimica e di farmacologia 20, Agosto 1894.
[3]) G. Marcuse, Pflügers Archiv 67, 373, 1897.
[4]) H. Oertel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 123, 1898.
[5]) Keller, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 146, 1899.

Mandel und Oertel[1]) fanden in Versuchen mit sehr ungleicher Nahrung, daß die Ausscheidung des organisch gebundenen Phosphors nur wenig schwankt. Die täglich ausgeschiedene Menge betrug z. B. bei Reiszufuhr 0,011 bis 0,016 g, bei Zufuhr von Heringsrogen 0,010 bis 0,019. Das mittlere Prozentverhältnis war in beiden Versuchsreihen 1,48 %.

Le Clerk und Cook[2]) geben an, im Harne von Kaninchen und Hunden weder bei phosphorarmer noch bei phosphorreicher Kost organisch gebundenen Phosphor gefunden zu haben. Indessen ergibt sich aus ihren Zahlen, daß sie konstant in dem Harn nach dem Schmelzen (durch Titration nach Neumann) 3 bis 4 % mehr P_2O_5 fanden als bei direkter Titration mit Uran, und sie messen diesem Unterschied nur deshalb kein Gewicht bei, weil er den Fehlergrenzen zu nahe liegt.

Endlich hat in jüngster Zeit Yoshimoto[3]) bei einem 10 kg schweren Hund Bestimmungen einerseits der präformierten Phosphorsäure durch Fällung mit Magnesiamixtur und Urantitrierung, andererseits der organisch gebundenen Phosphorsäure im Filtrat vom Magnesianiederschlag nach Schmelzen mit Salpetermischung als Pyrophosphat ausgeführt. Die Menge der organisch gebundenen Phosphorsäure ergab sich bei üblicher Versuchskost zu 0,0221 bis 0,0239 g P_2O_5, das Verhältnis zur Gesamtphosphorsäure zu 1,2 bis 3,0 %, im Mittel zu 2,1 %.

Die Frage, woher der organisch gebundene Phosphor des Harns stammt, ist nicht durchaus in gleichem Sinne beantwortet worden. Zwar haben die Untersuchungen ergeben, daß er der Hauptmasse nach aus dem Zerfall organischer Phosphorverbindungen des Tierkörpers stammt (endogene Komponente), hingegen wird ein Einfluß des Phosphors der Nahrung (exogene Komponente) von einzelnen Beobachtern angegeben, von anderen geleugnet.

Die Abhängigkeit von dem Abbau der Phosphorverbindungen des Organismus geht am schlagendsten aus den von Keller

[1]) Mandel und Oertel, N. J. Bull. med. soc. 1, 165, 1901, zitiert bei Symmers, Journ. of Pathol. u. Bacteriol. 10, 160, 1905.

[2]) J. A. Le Clerk und F. C. Cook, Journ. of Biolog. Chem. 2, 203, 1906.

[3]) S. Yoshimoto, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 464, 1910.

an sich selbst und an einem Säugling durchgeführten Hungerversuchen hervor. In dem Selbstversuch wurde eine tägliche Ausscheidung an organisch gebundenem Phosphor von 0,017 bis 0,0573 P_2O_5, entsprechend 0,9 bis 2,3 % des Gesamtphosphors gefunden, also nicht erheblich weniger als sonst für normale Individuen bei mittlerer Nahrungszufuhr gefunden worden ist. Andererseits zeigen die Beobachtungen von Keller sowie besonders von Oertel und Mandel, daß ein Parallelismus zwischen Ausscheidung des organisch gebundenen Phosphors im Harn und des Gesamtstickstoffs nicht besteht.

Aber auch die Größe des gesamten Phosphorstoffwechsels ist, wenn überhaupt, so nur von geringem Einfluß. Durch Darreichung von Phosphaten (KH_2PO_4) in der Nahrung wurde die Menge des organisch gebundenen Anteils nicht erhöht (Zuelzer).

Nach Darreichung von Glycerinphosphaten beobachtete zwar Bülow zweimal eine geringe Vermehrung des organisch gebundenen Phosphors im Harn; sie wurde jedoch von anderen Beobachtern [Pasqualis[1]), Bergmann[2]), Marfori[3])] vermißt.

Lecithinzusatz steigerte beim Hund die Menge des organisch gebundenen Phosphors nicht (Yoshimoto), ebenso war nach Mandel und Oertel ein Einfluß von phosphorreicher Kost (Kalbshirn, Heringsrogen, Fleisch) ohne Einfluß; Zuelzer kam hingegen beim Hunde nach Darreichung von nucleinreicher Kost und Gehirn zu etwas höheren Zahlen für organisch gebundenen Phosphor, und auch Keller fand bei Ernährung der Säuglinge mit Kuhmilch im allgemeinen einen etwas höheren Gehalt daran als bei Ernährung mit Frauenmilch.

II.

Die nachstehenden Versuche hatten die Aufgabe zu prüfen, ob ein höherer Gehalt der Nahrung an organisch gebundenem Phosphor eine Mehrausscheidung daran zur Folge hat, und welche Art von Phosphatiden in dieser Richtung am stärksten wirksam ist.

---

[1]) G. Pasqualis, a. a. O.

[2]) W. Bergmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 47, 77, 1901.

[3]) P. Marfori, Arch. f. Physiol. 2, 217, 1903; 5, 207, 1908.

Als Normalfutter diente Pferdefleisch mit Speck. Es wurde an den eigentlichen Versuchstagen durch ein phosphorreiches Futter ersetzt, dessen Stickstoffgehalt annähernd dem des Normalfutters entsprach.

(In einer anderen Versuchsreihe diente als Normalkost der an Kalkphosphat reiche Hundekuchen. Da in dieser Versuchsreihe das Prinzip einer annähernd gleichen täglichen Eiweißzufuhr nicht genügend eingehalten und die Bestimmung des organisch gebundenen Phosphors nach einer nicht ganz einwandfreien Methode durchgeführt wurde, sehe ich von der ausführlichen Mitteilung der Versuchsreihe ab. Das tatsächliche Ergebnis fällt durchaus mit dem der mitgeteilten Versuchsreihe zusammen.)

Als Versuchstier diente eine Hündin, die am Beginn der 18tägigen Versuchsreihe 8000, am Schluß 7350 wog. Sie wurde in einem Glaskäfig gehalten. Der Harn der 2 und 3tägigen Versuchsperioden wurde durch Katheterisieren abgegrenzt und vereinigt zur Untersuchung genommen.

Die Bestimmung des Stickstoffs geschah nach Kjeldahl, die des Gesamtphosphors durch Veraschung und Titration nach Neumann. Zur Ermittelung des organischen Phosphors wurde der Harn mit Magnesiamixtur ausgefällt, der Niederschlag nach 12 bis 24stündigem Stehen aufs Filter gebracht, mit 3%iger Ammoniaklösung ausgewaschen und das Filtrat ebenfalls nach Neumann verarbeitet.

Die Bestimmung des organisch gebundenen Phosphors geschah somit direkt, nicht durch Differenz. Die Abscheidung der Phosphorsäure als Tripelphosphat habe ich (wie auch die meisten früheren Untersucher) gewählt, weil mir Vorversuche ihre besondere Eignung ergeben hatten. Die Ausfällung der Phosphorsäure ist so vollständig, daß im Filtrat die Molybdänsäurereaktion keine Gelbfärbung, geschweige denn einen Niederschlag ergibt.

Ausfällung mit Uranacetat in der Wärme (nicht aber in der Kälte) leistete dasselbe; Ausfällung mit Baryt erwies sich als unzureichend.

Nebenstehend teile ich meine Versuchsresultate in tabellarischer Anordnung mit. Der Vergleichbarkeit wegen sind die aus den 2 und 3tägigen Perioden sich ergebenden Tagesmittel eingetragen.

III.

Diese Befunde bestätigen zunächst die Ansicht der meisten früheren Untersucher, daß der Harn normalerweise etwas organisch gebundenen Phosphor enthält.

Datum	Dauer der Periode in Tagen	Nahrung pro Tag	Gewicht	Harnstickstoff pro Tag g	Gesamt-P_2O_5 pro Tag g	Organisch. P_2O_5 pro Tag g	Org. P_2O_5 in Proz. der Gesamt-P_2O_5
April 24.-26.	3	100 g Pferdefleisch 30 g Schweinespeck 200 ccm Wasser	8000	5,98	0,4268	0,0136	3,2
April 27.-29.	3	Ebenso	7906	5,60	0,4188	0,0146	3,5
30. April und 1. Mai	2	300 g **Kalbsgehirn** 200 ccm Wasser	7700	4,90	1,4340	0,0227	1,6
Mai 2.-4.	3	100 g Pferdefleisch 30 g Schweinespeck 200 ccm Wasser	7370	5,28	0,5166	0,0109	2,1
Mai 5.-6.	2	50 g **Casein** (trock.) 30 g Schweinespeck 200 ccm Wasser	7300	5,50	0,8978	0,0140	1,6
Mai 7.-9.	3	100 g Pferdefleisch 30 g Schweinespeck 200 ccm Wasser	7350	4,93	0,3941	0,0086	2,2
Mai 10.-11.	2	260 g **Kalbsthymus** 30 g Schweinespeck 200 ccm Wasser	7350	5,58	1,6436	0,0198	1,2

Die von Marcuse sowie von Le Clerk und Cook wegen der Geringfügigkeit der Ziffer geäußerten Bedenken können nicht als durchschlagend angesehen werden, wenn man sich vor Augen hält, 1. daß sich trotz großer Verschiedenheit der Bestimmungsmethoden bei allen Untersuchern ein Plus des Gesamtphosphors gegenüber dem anorganischen Anteil herausgestellt hat, nie aber das Gegenteil, wie doch zu erwarten wäre, wenn es sich um einen Bestimmungsfehler handelte; 2. daß die Menge des organisch gebundenen Anteils bei den meisten Autoren auffällig gleich gefunden wurde.

So berechnet sich für Hundeharn das Prozentverhältnis des organisch gebundenen zum Gesamtphosphor folgendermaßen:

Zuelzer . . . 0,18—7,2, im Mittel 3,3
Marcuse . . 1,6 —4,4, „ „ 2,5
Yoshimoto[1]) 1,2 —3,0, „ „ 2,1

Aus meinen Versuchen ergibt sich für die Normaltage 2,1—3,5, im Mittel 2,7%.

[1]) An den lecithinfreien Tagen.

Eine solche Übereinstimmung dürfte sich, da ganz verschiedene Bestimmungsmethoden zur Anwendung kamen, schwerlich durch Versuchsfehler erklären lassen. Immerhin soll nicht geleugnet werden, daß die Darstellung und genauere Charakterisierung der organischen Phosphorverbindung des Normalharns sehr erwünscht wäre.[1])

In betreff der Abhängigkeit von der Ernährung zeigen meine Versuche, übereinstimmend mit jenen von Oertel, Keller und von Oertel und Mandel, daß die Menge des organisch gebundenen Phosphors der Hauptsache nach von dem Abbau phosphorhaltiger Verbindungen im intermediären Stoffwechsel abhängt. Doch lehren sie in Übereinstimmung mit Kellers Erfahrungen, daß ein, wenngleich geringfügiger, Einfluß der phosphorreichen Verbindungen der Nahrung besteht. Das nach Zufuhr von Gehirn (also Lipoid-Phosphatiden) und Thymus (also Nucleinsäuren) auftretende Plus liegt außerhalb der Fehlergrenzen.[2])

Casein, in einer der sonst gereichten Kost äquivalenten Menge genossen, gab keinen sicheren Ausschlag. In einem nicht weiter anzuführenden Versuch, wo die doppelte Menge zugeführt wurde, war indes eine Steigerung in der Ausscheidung des organisch gebundenen Phosphors unverkennbar.

Bemerkenswert ist, daß in allen Fällen, wo phosphorreiche Kost gereicht wurde, die absolute Menge des organisch gebundenen Phosphors zunahm, jedoch das relative Verhältnis zum Gesamtphosphor nicht bloß nicht stieg, sondern geradezu sank.

So war das Prozentverhältnis an den Fleischtagen 2,1—3,5, im Mittel 3,3, nach Kalbsgehirn, Casein und Kalbsthymus 1,6, 1,6 und 1,2%, im Mittel 1,5.

Nach Zufuhr von Phosphatiden nimmt sonach die Gesamtphosphorsäure stärker zu als der organisch gebundene

---

[1]) Sotnitschewsky (Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 214, 1880) hat sie auf Grund qualitativer Reaktionen als Glycerinphosphorsäure angesprochen. Die seitdem nachgewiesene Leichtverbrennbarkeit dieser Verbindung in Tierkörper, selbst nach Zufuhr großer Mengen macht eine Nachprüfung dieses Befundes wünschenswert.

[2]) Dasselbe Resultat ergab die oben erwähnte, nicht ausführlich mitgeteilte Versuchsreihe.

Anteil. Dieselbe Tatsache geht übrigens auch aus Yoshimotos Lecithinversuchen hervor, wo sich das Prozentverhältnis in den Normalperioden zu 2,0 und 2,2, in den Lecithinperioden zu 1,6, 1,8 und 1,4 ergibt.

Die große Konstanz in den normalen Ausscheidungsverhältnissen des organisch gebundenen Phosphors läßt deren weitere Untersuchung unter pathologischen Verhältnissen aussichtsvoll erscheinen, zumal da Zuelzer und Symmers angeben, hier sehr starke Abweichungen beobachtet zu haben. Jedenfalls bedarf die Vorstellung dieser Autoren, daß zwischen der Ausscheidung von organisch gebundenem Phosphor und pathologischen Veränderuugen des Nervensystems eine Beziehung besteht, dringend der Nachprüfung.

Versuche über Entgiftung der Blausäure durch schwefelabspaltende Substanzen.

Von

Josef Hebting.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 20. August 1910.)

Im Jahre 1894 hat S. Lang[1]) in Hofmeisters Laboratorium gefunden, daß Nitrile einschließlich der Blausäure im Tierkörper zur Ausscheidung von Rhodaniden führen. Wie wir diesen Vorgang uns vorzustellen haben, zeigte W. Pascheles [Pauli][2]). Er konnte in Organbrei (auch in koaguliertem) eine Umwandlung von Cyankalium in Rhodankalium nachweisen. Die Schwefelabgabe rührte in diesem Fall offenbar vom Eiweiß, vermutlich von dessen Cystingruppe her. Doch zeigte bald darauf Lang[3]), daß die Schwefelanlagerung im lebenden Organismus viel rascher erfolgt als außerhalb. Im Anschluß an diese Befunde hat S. Lang versucht, durch Einführung verschiedener schwefelhaltiger Verbindungen den Organismus gegen die Giftwirkung der Blausäure zu schützen. Er fand Natriumthiosulfat stark antitoxisch wirksam, ebenso das allerdings an sich stark toxische Natriumsulfid, weniger Cystin und Cystein. Heymanns[4]) und seine Schüler, sowie Reid Hunt[5]) haben dann,

---

[1]) S. Lang, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 34, 247, 1894.

[2]) W. Pascheles, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 34, 285, 1894.

[3]) S. Lang, ebenda, 36, 75, 1895.

[4]) J. F. Heymanns und P. Masoin, Arch. internat. d. pharmacodyn. 3, 77, 1897. — Dieselben, ebenda, 3, 359. — Verbugge, ebenda, 5, 161, 1898. — J. F. Heymanns, Du Bois Reymonds Archiv, physiol. Abteilung 1897, 157. — J. F. Heymanns, Journ. of Physiol. 23, Suppl. 23, 1899. — Meurice, Arch. intern. d. pharmacodyn. 7, 11, 1900. — J. F. Heymanns und P. Masoin, ebenda, 8, 1, 1901.

[5]) Reid Hunt, Arch. intern. d. pharmacodyn. 12, 447, 1904.

dem gleichen Gedankengang folgend, die Entgiftung von Blausäure, Mono- und Dinitrilen durch Natriumthiosulfat und andere Schwefelverbindungen ausführlich untersucht. In jüngster Zeit konnte von Meurice[1]) auch für das an sich recht giftige Natriumselenosulfat eine geringe Gegengiftwirkung beobachtet werden.

Von den untersuchten, nicht besonders giftigen Schwefelverbindungen steht das von Lang bereits besonders wirksam befundene Thiosulfat immer noch in erster Reihe. Ihm dürften sich nach Reid Hunt nur Thialdin, Carbothialdin und Xanthogenat zur Seite stellen. Im Hinblick darauf, daß die anscheinend nicht untersuchten Polythionate ähnlich wie das Thiosulfat Schwefel abspalten, schien ein Versuch über ihre antagonistische Wirkung gegenüber Blausäure erwünscht. Ferner lag es nahe, daran zu denken, daß die von der Cystingruppe des Eiweißes sich ableitenden schwefelhaltigen Abbauprodukte an der Entgiftung der CN-Gruppen beteiligt sein könnten. Ich habe daher die Versuche von Lang weitergeführt, indem ich die antagonistische Wirkung von Tetrathionsäure, Cystin, β-Thiomilchsäure, α-Dithiodilactylsäure, β-Dithiodilactylsäure und eines schwefelreichen, von Lovén dargestellten Derivats der Brenztraubensäure, dessen Konstitution nicht festgestellt scheint ($C_6H_{10}S_2O_4$), festzustellen suchte.

Das tetrathionsaure Natrium wurde nach der Vorschrift Klobukows[2]) durch Eintragen von Jod in $Na_2S_2O_3$-Lösung erhalten, durch Umkrystallisieren gereinigt und durch Oxydation mit Brom mittels Schwefelsäurebestimmung auf seine Reinheit geprüft.

Das Cystin war nach E. Friedmann[3]) aus Menschenhaaren gewonnen. Die Darstellung der Thiomilchsäure und ihrer Derivate geschah nach Lovén[4]). Sämtliche Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt. In der Versuchsanordnung hielt ich mich an Langs Erfahrungen mit geringen Ab-

---

[1]) Meurice, Arch. intern. d. pharmacodyn. 16, 469, 1906.

[2]) Klobukow, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 18, 1869, 1885.

[3]) E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol 3, 16, 1903.

[4]) Lovén, Journ. f. prakt. Chemie. 29, 366, 1884.

weichungen. So wurde bei den Versuchen mit Cystin dieses wiederholt vor der Einführung der Blausäure beigebracht, um gewissermaßen eine Anreicherung des Körpers an der schwer löslichen Substanz zu erreichen.

Die Versuche sind nachstehend tabellarisch zusammengestellt.

Tabelle.

Va.	Antidot	Gew. d. Tieres um	Blausäure			Antidot		Ergebnis, Bemerkungen
			injiziert	mg	mg pro kg	beigebracht um	g	
1	Natrium-tetrathionat	1600	—	—	—	$10^h 15'$	1,6 subc.	Tod nach 12 Stunden.
2	„	1470	—	—	—	$9^h 30'$	0,6 subc.	Keine Erscheinungen.
3	„	1520	$3^h 15'$	6 subc.	4	$3^h 16'$	0,15 subc.	Krämpfe, $3^h 25'$ Bewußtlosigkeit, $3^h 45'$ Wiederauftr. d. Conjunctivalreflex., Erholung.
4	„	1420	$3^h 52'$	25,2 per os	17,8	$3^h 45'$	0,5 per os	Leichte Dispnoe. Sonst keine Erscheinungen.
5	„	1420	$11^h 46'$	24,4 per os	17,4	$11^h 47'$	0,5 per os	Tod nach 8 Minuten.
6	„	1250	$5^h 35'$	30 subc.	24,0	$5^h 15'$	0,5 intrav.	$5^h 38'$ Krämpfe, $5^h 46'$ Tod.
7	„	1150	$6^h 30'$	17,6 subc.	15,3	$6^h 25'$	0,5 intrav.	Tod nach 15 Minuten.
8	„	1330	$5^h 20'$	9,3 subc.	7,0	$5^h 20'$	0,5 intrav.	Tod nach 18 Minuten.
9	Cystin	1510	—	—	—	$11^h 45'$	0,22	
			—	—	—	4^h	0,22	
			$6^h 01'$	6,8	4,5	6^h	0,22 intrav.	6^h Krämpfe, Tod in der Nacht.
10	β-Thiomilchsäure	1570	$6^h 03'$	118 subc.	7,5	$6^h 02'$	1,0 intrav.	Tod nach 2 Stunden.
11	α-Dithiodilactylsäure	1500	$6^h 31'$	7,5 subc.	5	$5^h 30'$	0,5 intrav.	Keine Erscheinungen.
12	β-Dithiodilactylsäure	1670	$5^h 06'$	7,5 subc.	4,5	$5^h 07'$	0,5 intrav.	$5^h 20'$ Krampfanfall, $5^h 50'$ erholt.
13	Trithioverbindung	1950	$11^h 22'$	35,1 subc.	18	$11^h 21'$	1,0 intrav.	Tod nach 8 Minuten.
14	„	1900	$12^h 15'$	17,1 subc.	9	$12^h 14'$	1,0 intrav.	$12^h 20'$ Laufbeweg., Krämpfe, $1^h 15'$ Erholung.

Versuchsergebnisse.

Aus der vorliegenden Tabelle ist zu entnehmen, daß alle untersuchten schwefelreichen Substanzen eine gewisse Entgiftungswirkung entfalten, die aber nirgends jene des Thiosulfats erreicht. Bei Verwendung von Tetrathionat tritt Entgiftung ein, wenn Gift und Gegengift per os eingeführt werden, doch nur, wenn das Gegengift zuerst appliziert wird (Vers. 4 u. 5). β-Thiomilchsäure bewirkte, intravenös unmittelbar vor der subcutanen Einspritzung der Blausäure beigebracht, eine ausgesprochene Verzögerung der Giftwirkung (Vers. 10). Ebenso bewirkte präventive intravenöse Einführung von α- und β-Dithiodilactylsäure, sowie der Lovénschen Trithioverbindung ausgesprochene Entgiftung vor subcutan beigebrachten mehr als tödlichen Blausäuredosen.

Danach ist die Möglichkeit gegeben, daß die Entgiftung der Nitrile und der Blausäure im Tierkörper unter Rhodanbildung nicht durch Abspaltung von Schwefel aus den Eiweißkörpern allein, sondern auch aus den schwefelreichen Abbauprodukten zustande kommt, und es ist nicht ausgeschlossen, daß die genauere Kenntnis dieser Abbauprodukte zur Auffindung wirksamerer Antidote führen wird.

Bei der Leichtigkeit, mit der Tetrathionat Schwefel abgibt, der dann im Körper einer weiteren Oxydation verfallen muß, war daran zu denken, daß es auch zur Entgiftung von Phenolen geeignet sein könnte. S. Tauber[1]) gelangte seinerzeit auf Grund sehr zahlreicher Versuche zu dem Schluß, daß die Bildung von Phenolschwefelsäure im Tierkörper nicht, wie Baumann annahm, durch direkte Verbindung mit Schwefelsäure oder Sulfat erfolgt, sondern durch Anlagerung einer niedrigeren Oxydationsstufe des Schwefels. Seine Versuche hatten nämlich gelehrt, daß weder Natriumsulfat noch Thiosulfat, Schwefelnatrium, Dithionat, Taurin, Pyrosulfat, Natriumäthylsulfat die letale Dosis beeinflussen, wohl aber, wenn auch in geringem Umfange Sulfite und dem Sulfit nahestehende Verbindungen, Natriumaldehydsulfit, vielleicht Natriumpyrosulfit. In jüngster Zeit hat dann Sato[2]) im Salkowskischen Labo-

[1]) S. Tauber, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 197, 1895.

[2]) Sato, Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 378, 1909.

ratorium gezeigt, daß Zufuhr von Cystin und kolloidalem Schwefel bei gleichzeitiger nicht letaler Phenoldarreichung die Menge der ausgeschiedenen gepaarten Schwefelsäuren etwas steigert, während Isäthionsäure, Albumose aus Eieralbumin und Schwefelharnstoff in dieser Richtung keine sichere Wirkung äußern.

Ich habe mit Natriumtetrathionat 6 Entgiftungsversuche gegenüber Phenol in der von Tauber eingehaltenen Anordnung angestellt, wobei die Art der Applikation verschieden wechselte. Das Resultat ging übereinstimmend dahin, daß dem Natriumtetrathionat gegenüber Phenol keine entgiftende Wirkung zukommt, nicht einmal jene wenig ausgiebige, die Tauber für die Sulfite ermittelt hat, so daß ich auf eine Wiedergabe der Versuche verzichten kann. Es bleibt daher auch weiterhin die Notwendigkeit bestehen, jene zwischen Cystin- und Schwefelsäure stehende Verbindung zu suchen, die im Organismus bei der Bildung der Ätherschwefelsäuren unmittelbar beteiligt ist.

Über Hexosephosphorsäureester.

I. Mitteilung.

Von

A. v. Lebedew.

(Eingegangen am 18. August 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

Im Jahre 1907 hat L. Iwanoff[1]) eine Arbeit veröffentlicht, in der er behauptete, daß es ihm bei der Vergärung von Traubenzucker oder Fructose mit Zymin (Acetondauerhefe) gelungen sei, durch die Fällung der vergorenen Flüssigkeit mit Kupferacetat einen Zuckerphosphorsäureester zu isolieren, der mit Phenylhydrazin ein Osazon vom Schmelzpunkt 142° (Ausgangsmaterial Glucose) bzw. 125° (Ausgangsmaterial Fructose) lieferte. Danach sollte es ein Ester einer Triose oder des Methylglyoxals sein.

Bald darauf hat W. J. Joung[2]) in demselben Jahre eine kurze vorläufige Mitteilung gemacht, daß er mit Hilfe von Bleinitrat aus dem vergorenen Hefepreßsafte ein Bleisalz von der empirischen Formel $C_3H_5O_2(PO_4Pb)$ isoliert habe, wodurch indirekt die Angabe von Iwanoff bestätigt wurde.

Im Jahre 1909[3]) habe ich bei den Ultrafiltrationsversuchen, als ich ein Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung suchte, aus dem gärenden Preßsafte einen Zuckerester durch die Fällung mit Aceton isoliert, der mit Phenylhydrazin ein Osazon von der Formel $C_{24}H_{29}N_6O_6P$ gab. Danach sollte der Ester eine Verbindung der Phosphorsäure mit einer Hexose sein. Ich stellte außerdem fest, daß das Produkt aus Glucose oder

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 281, 1907.

2) Proc. of the chem. Soc. 23, 65, 1907.

3) Diese Zeitschr. 20, 114, 1909.

Fructose dasselbe Osazon lieferte.[1]) Zweifellos wird auch das Produkt aus Mannose dasselbe Osazon ergeben.[2]) Später hat Joung[3]) eine Arbeit veröffentlicht, in der er seine ursprüngliche Formel des Zuckeresters verdoppelt hat, so daß statt Glycerosephosphorsäure $C_3H_5O_2(PO_4Pb)$ Hexosephosphorsäure $C_6H_{10}O_4(PO_4Pb)_2$ anzunehmen ist.

Im folgenden möchte ich die Untersuchungen beschreiben, die ich unternahm, um die Richtigkeit der oben angeführten Formel zu bekräftigen, nach der das von mir dargestellte Osazon die Phenylhydrazido-Phosphorsäureverbindung eines Hexosazons ist, also die Formel

$$C_6H_8N_2H_2PO_4C_4H_5(OH)_3\underbrace{C(NNHC_6H_5)CH}NNHC_6H_5$$

[1]) Fast gleichzeitig mit meiner Arbeit ist auch eine Arbeit von L. Iwanoff erschienen (Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 24, 1, 1909), in der er seine früheren Angaben insofern ergänzte, daß das Osazon des Produktes aus Glucose und Fructose denselben Schmelzpunkt (127°) besitze und, nach dem Ergebnis der Stickstoffbestimmung, das Osazon einer Triose sei oder eines „einer Triose am nächsten stehenden Stoffes". Der Verfasser erhielt aber kein Osazon, sondern höchstwahrscheinlich Acetylphenylhydrazin, worauf ich schon in meiner oben erwähnten Arbeit hingewiesen habe.

[2]) In der letzten Zeit habe ich auch ähnliche Versuche (vgl. l. c., S. 121) mit Dioxyaceton ausgeführt, das nach Bertrand vergärbar ist (Étude biochimique de la bactérie du sorbose. Separatabdruck 1904, S. 77. Vgl. E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 1773, 1910). Dioxyaceton habe ich mit Hilfe der Sorbosebakterie dargestellt, deren Reinkultur von Herrn G. Bertrand mir liebenswürdig überlassen wurde, wofür ich ihm meinen herzlichsten Dank ausspreche. Ich habe 5%ige und und 2½%ige Lösungen des Dioxyacetons durch Acetondauerhefe und trockene Münchener Hefe (mit 20% Wassergehalt) in 4 Kölbchen vergären lassen. Bei jedem Versuch wurden angewandt 200 ccm Wasser, 10 bzw. 5 g Dioxyaceton und 3 bzw. 2 g Natriumphosphat (1 Teil einbasisches und 1 Teil zweibasisches) — 20 g Hefe. In beiden Fällen fand eine lebhafte Gärung statt; besonders gut mit trockenen Hefen, die 2 Tage (bei 27,5° im Ostwaldschen Thermostat) dauerte. Von Zeit zu Zeit (nach 3 bis 4 Stunden) machte ich die Kontrolle mit Uranacetat auf die noch vorhandene Menge der Phosphorsäure, um den richtigen Zeitpunkt auszuwählen, wann die Gärung zur Isolierung des Esters unterbrochen werden sollte, doch stellte sich heraus, daß keine merkliche Abnahme der Phosphorsäure stattfand, d. h., daß die Vergärung des Dioxyacetons ohne Bildung des entsprechenden Zuckeresters vor sich geht. Diese Versuche werde ich, ihrer theoretischen Wichtigkeit wegen, in größerem Umfange wieder aufnehmen.

[3]) Proc. Roy. Soc. B, 81, 528, 1909.

hat. Dabei ist die Formel nur insofern geändert, als die Bildung des Hydrazids ohne Austritt eines Moleküls Wasser stattfindet, wie es sich bei der Analyse der umkrystallisierten Substanz herausstellte. In meiner letzten Mitteilung habe ich die Zahlen der Analyse des phosphorhaltigen Osazons angeführt, das nicht umkrystallisiert wurde, da es aus verschiedenen Lösungsmitteln immer amorph ausfiel. Schließlich ist es mir gelungen, das Osazon aus der alkoholischen Lösung mit Äther krystallinisch auszufällen. Doch gelingt dies nur, wenn die Auflösung des Osazons in siedendem Alkohol zur Vermeidung von Zersetzung verhältnismäßig rasch stattfindet, und zwar durch Anwendung einer viel größeren Menge des Lösungsmittels als nötig ist. Wenn die Auflösung zu lange dauert, so wird durch Äther nichts oder nur Amorphes gefällt.

Die folgenden Zahlen zeigen die Ergebnisse zweier Analysen von derselben, aber bei verschiedenen Temperaturen getrockneten Substanz. I, im Vakuum bei 65° getrocknet (Schmelzpunkt unkorr. unter Zersetzung 148 bis 150°), 0,1573 g; CO_2 — 0,3064 g; H_2O — 0,0808 g.

Substanz: 0,1242 g; 15,9 ccm N (15°, 757 mm),
" 0,2423 g; $Mg_2P_2O_7$ — 0,049 g.

II, Substanz im Vakuum bei 35° getrocknet (Schmelzpunkt 150 bis 152°), 0,1613 g; CO_2 — 0,3116 g; H_2O — 0,0842 g.

Substanz: 0,1090 g; 15,9 ccm N (17°, 736 mm),
" 0,2524 g; $Mg_2P_2O_7$ — 0,0516 g.

$C_{24}H_{31}N_6O_7P$:

Berechnet	Gefunden	
	bei 65° getrocknet	bei 35° getrocknet
C — 52,75	C — 53,12	52,68
H — 5,68	H — 5,75	5,80
N — 15,38	N — 14,95	15,35
P — 5,68	P — 5,63	5,70

Die Bestimmung der Phosphorsäure wurde in beiden Fällen durch Veraschen mit Kalisalpetergemisch ausgeführt. Das Veraschen nach H. Pringsheim[1]) mit Natriumsuperoxyd im Stahltiegel gelingt schlecht. Das ausgeglühte Magnesiumpyrophosphat wurde, um es von der Kohle zu befreien, in Salzsäure aufgelöst, wieder gefällt und ausgeglüht.[2]) Auf

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36, 4244, 1903; Am. chem. Journ. 31, 386, 1904.

[2]) Treadwell, Kurzes Lehrb. d. anal. Chem. 2, 290, 1902.

diese Weise gelang es schließlich einen ganz weißen $Mg_2P_2O_7$-Niederschlag zu bekommen.

Das Osazon färbt sich bei längerem Erhitzen dunkel und ist sehr hygroskopisch. Aus absolutem Alkohol mit Äther gefälltes Osazon bildet kanariengelbe, seidenglänzende, zu Büscheln zusammengewachsene Nadeln. Aus 96 %igem Alkohol erscheint es oft orangerot in kugeligen, aus mikroskopisch kleinen Nadeln bestehenden Aggregaten. Beim Trocknen gewinnt es schließlich seine gelbe Farbe wieder. In den Fällen, wo es durch Äther amorph ausfällt, geht es nach einiger Zeit, jedoch nicht immer, in die kugeligen orangeroten Aggregate von mikroskopisch kleinen Nadeln über.

Das Osazon wird in Berührung mit Aceton momentan tiefrot, bleibt aber auch bei Siedetemperatur so gut wie unlöslich, doch löst es sich bei Zusatz von Wasser mit gelblicher Farbe auf.

Die oben angeführten Analysenzahlen stimmen gut mit den aus der Formel für Hydrazidohexosazon berechneten; es wurde darum versucht auf andere Weise nachzuweisen, daß es sich wirklich um ein Derivat der Hexose handelt. Es gab dazu drei Wege: 1. Hydrolyse des Esters selbst, 2. seines Osazons, 3. Darstellung des entsprechenden Osons.

Vor allem habe ich das letzte versucht, mit Hilfe von Salzsäure nach der Fischerschen Methode. Es wurde dabei nach seiner Vorschrift[1]) gearbeitet, allerdings mit der dem speziellen Fall entsprechenden Abänderung, daß die Flüssigkeit nach dem Abfiltrieren[2]) des salzsauren Phenylhydrazins im Goochtiegel nur bis zu schwach-saurer Reaktion mit Bleicarbonat neutralisiert und das Blei mit H_2S entfernt wurde. Das Filtrat wurde mit Soda neutralisiert, $^1/_4$ Stunde mit Tierkohle stehen gelassen und dadurch vollständig wasserhell gemacht. Das so gereinigte Filtrat gibt mit Phenylhydrazin nach kurzer Erwärmung bei 50 bis 60° auf dem Wasserbade einen gallertartigen Niederschlag, der sich nach 24 Stunden oder mehr allmählich zum größten Teil in kugelige Aggregate mikroskopisch kleiner Nadeln umwandelt. Doch ist es mir gelungen, ihn einmal gleich nach dem kurzen Erwärmen krystallinisch in Büscheln von großen Nadeln zu erhalten. Vorläufig kann ich noch keine Erklärung dafür geben. Es entstand dabei das ursprüngliche Osazon mit dem Schmelzpunkt 152° C und daneben eine viel kleinere Menge des Osazons mit dem Schmelzpunkt 210° C (einmal umkrystallisiert). Wahrscheinlich

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 22, 87, 1889.

[2]) Der Niederschlag war bei 100° getrocknet und gewogen; es ergaben sich 3,0 g auf 4 g angewandten Osazons.

ist ein Teil des Hydrazido-Osazons durch die Einwirkung der HCl gespalten worden.

Der Hexosonphosphorsäureester gibt mit Blei eine schwer lösliche Verbindung. Um dieses Salz darzustellen, habe ich, nachdem die Hauptmasse des Chlors durch Bleiweiß entfernt war, den Rest des Chlors in Anwesenheit freier Salpetersäure als Silberchlorid entfernt und nach der Neutralisation mit Natriumcarbonat, das Hexosonphosphat mit Bleiacetat gefällt, bei 100° getrocknet, gewogen, mit Schwefelsäure zersetzt, das $PbSO_4$ durch einen Goochfilter abfiltriert, mit Wasser und Alkohol gewaschen und zusammen mit dem Tiegel in einen Nickeltiegel auf dem Bunsenbrenner geglüht bis der Niederschlag vollständig weiß war.

Substanz 0,1546 g: $PbSO_4$ — 0,1022 g.

$C_6H_9PO_9Pb$: Berechnet: Pb 44,71; Gefunden: Pb 45,16.

Die Übereinstimmung ist recht befriedigend; doch der Umstand, daß das Bleisalz amorph ist und keine Bürgschaft für die Reinheit des analysierten Präparates gab, veranlaßt mich, noch eine weitere ausführliche Untersuchung des Osons zu unternehmen, nämlich andere Salze und Derivate darzustellen, was erst im Wintersemester ausgeführt werden kann und den Gegenstand der nächsten Mitteilung bilden wird.

Außerdem habe ich auch mittels Benzaldehyd[1]) das Oson darzustellen versucht. Um das durchzuführen, habe ich die von mir früher gemachte Beobachtung[2]) benutzt, daß das Osazon mit Alkali ein leicht in Wasser lösliches Salz bildet. Auf diesem Umwege konnte ich es in Lösung bringen. In einem Erlenmeyerkolben füllte ich auf 1 g Osazon 100 g Wasser und so viel Kalilauge, bis alles restlos aufgelöst wird, dann setzte ich 1 g Benzaldehyd hinzu und kochte auf der Asbestplatte $^1/_4$ Stunde. Es bildete sich reichlich Benzaldehydhydrazon, doch war nach dem Abfiltrieren des Niederschlages das Filtrat gelb; auch durch Schütteln mit Tierkohle blieb es unverändert. Nach dem Zusatz von Essigsäure fiel eine gelbe gelatinöse Substanz aus, die sich im Überschuß der Säure wieder mit rotbrauner Farbe löste. Das Filtrat gab

[1]) Emil Fischer und E. Frankland-Armstrong, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 3141, 1902.

[2]) l. c., S. 124.

beim Zusatz von Bariumchlorid oder Bleiacetat einen gelben amorphen, flockigen Niederschlag. Das Bariumsalz löst sich im siedenden Alkohol, und beim Erkalten fällt es wieder krystallinisch aus. Diesen Niederschlag habe ich vorläufig noch nicht analysiert. Es lag die Vermutung nahe, daß die Reaktion mit Benzaldehyd nicht bis zu Ende ging und etwas unverändertes Osazon zurückblieb. Ich habe darum den Versuch wiederholt mit der Abänderung, daß ich nach 10 Minuten Kochen mit Benzaldehyd wieder 1 g Benzaldehyd zugab und noch eine $^1/_4$ Stunde kochte. Doch die Wirkung war der erwarteten entgegengesetzt, d. h. ein Teil des schon gebildeten Niederschlages war verschwunden, und Essigsäure fällte nach dem Abfiltrieren des Niederschlages noch viel mehr gelatinöse Substanz als bei dem ersten Verfahren. Da die mir zur Verfügung stehende Zeit nicht gestattet, die Ursache davon aufzuklären, habe ich versucht, mit Formaldehyd[1]) Phenylhydrazin abzuspalten, doch ebenso resultatlos — es fiel ein gelber amorpher Niederschlag, und das Filtrat blieb gelb.

Wie schon oben gesagt wurde, entsteht bei der Einwirkung der Salzsäure auf das Hydrazidohexosazon ein ebenfalls phosphorhaltiges Oson, d. h. die esterartige Verbindung blieb intakt.

Es wurde nun versucht, das entsprechende Hexosazon durch die Spaltung mit Säure oder Alkali phosphorfrei darzustellen. Die Spaltung des Hydrazidoosazons durch Kochen mit schwacher Salzsäure hat nicht zum Ziele geführt, da schon schwache Essigsäure bei Siedetemperatur es so weit zerstört, daß sich eine schwarze humusartige Masse bildet. Die Spaltung mit Alkali dagegen verlief günstiger. Dabei bin ich, wie folgt, verfahren. 4 g Hydrazidoosazon wurden in 400 ccm Wasser aufgeschlemmt und in der Kälte unter Schütteln 2 ccm 33 $^0/_0$ige KOH hinzugefügt. Nach einigen Minuten löste sich fast alles auf. Die Flüssigkeit wurde rasch abfiltriert (das gelbe Filtrat war vollständig klar) und bis zum Kochen erwärmt. Ein flockiger gelber Niederschlag, aus mikroskopisch kleinen Nadeln bestehend, erscheint dabei; er wurde abfiltriert und das klare gelbe Filtrat weiter auf dem kochenden Wasserbade stehen gelassen. Ungefähr nach 1 Stunde fing es an, sich leicht zu

[1]) Otto Ruff und Gerhard Ollendorf, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 3239, 3384, 1899.

trüben; mit der Zeit nahm die Trübung zu, und allmählich setzte sich wieder ein gelber Niederschlag ab. Er bestand aus langen makroskopischen, gekrümmten Nadeln, die zu eigentümlichen verästelten Gebilden zusammengewachsen waren. Beim Zusatz von größeren Mengen 33%iger Kalilauge (4 bis 8 ccm) erscheint der Niederschlag viel schneller und reichlicher, d. h. je länger gekocht und je mehr Alkali zugegeben wird, desto mehr Niederschlag erscheint und die Flüssigkeit wird dunkler. Wenn die Lösung von Anfang an stark alkalisch gemacht wird, so erscheint er bei Siedetemperatur fast momentan. Vor allem habe ich die Menge des ersten und zweiten Niederschlags bestimmt. Es ergab sich, daß der erste Niederschlag $^1/_{18}$ Teil der angewandten Menge des Hydrazidoosazons bildet, der zweite $^1/_6$.

Ich habe die beiden zeitlich in ihrem Erscheinen getrennten Niederschläge umkrystallisiert. Der erste löst sich leicht in Alkohol und Aceton und fällt beim Zusatz von Wasser wieder krystallinisch aus. Der zweite Niederschlag ist in diesen Solvenzien noch löslicher, besonders in Aceton und mit Wasser wird er ebenso krystallinisch gefällt. Den ersten Niederschlag habe ich 4 mal abwechselnd aus 96% Alkohol und reinem Pyridin[1]) umkrystallisiert und dann analysiert. Es ergab sich, daß es ein Hexosazon ist. Es besaß den Schmelzpunkt 215° (unter Zersetzung) und enthielt keine Asche.

Substanz 0,1087 g; 15 ccm N (23°, 759 mm).
Substanz 0,1512 g; CO_2 — 0,3336 g; H_2O — 0,0846 g.

$C_{18}H_{22}N_4O_4$:	Berechnet	Gefunden
	C — 60,34	60,18
	H — 6,15	6,22
	N — 15,64	15,56

Dieses Osazon 4 mal hintereinander aus wasserhaltigem Alkohol umkrystallisiert, fällt immer in mikroskopisch kleinen Nadeln aus, die in eigentümlich amorph aussehenden Aggregaten zusammengewachsen sind, ist tiefgelb und locker. Aus wasserhaltigem Pyridin krystallisiert es dagegen in seidenglänzenden, sehr langen, hellgelben, biegsamen Nadeln. Die Krystallisation wurde auf die Weise ausgeführt, daß ich es in Pyridin oder Alkohol unter Erwärmen löste, dann Wasser zusetzte, bis eine Trübung entstand, wieder erwärmte, bis die Lösung vollständig

[1]) Vergl. C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 3384, 1899.

klar war, und sodann allmählich abkühlen ließ, was mehrere Stunden in Anspruch nahm. Als ich es 6 mal abwechselnd aus Pyridin und Alkohol umkrystallisiert hatte, fing das Osazon auch aus Alkohol in makroskopischen Nadeln an zu krystallisieren, doch blieb die Krystallisationsart eine ganz andere, als beim Glucosazon. Auch der Niederschlag war gelber, sehr locker und voluminös. Die gleichzeitige Schmelzpunktbestimmung zum Vergleich mit Glucosazon ergab für das letzte 210° und für das erste 215°. Schließlich habe ich die Drehung der beiden Osazone in 2%iger Pyridinlösung im 5-cm-Rohr bestimmt. Die Bestimmung wurde bei Auerlicht mit dem Kaliumbichromatfilter im Polarimeter nach Landolt-Lippich (Schmidt und Haensch) ausgeführt.

Glucosazon aus Dextrose dargestellt und 2 mal frisch aus Alkohol umkrystallisiert, besaß die Drehung — 0,90°. Hexosazon 3 mal aus Alkohol umkrystallisiert, ergab — 0,80°.

Dasselbe 2 mal abwechselnd aus Alkohol und Pyridin umkrystallisiert, ergab — 0,84°. [Zum Vergleich habe ich auch die Drehung des Hydrazidoosazons[1]) (3 mal umkrystallisiert aus Alkohol) in 2%iger Pyridinlösung bestimmt. Es ergab sich — 0,30°. Die Messung war ± 0,05° ungenau, da die Lösung sehr dunkel war.]

Nach der Größe der Drehung zu urteilen, dürften diese beiden Osazone identisch sein.[2]) Zur endgültigen Entscheidung der Frage habe ich versucht, das Bromphenylosazon darzustellen, da, wie unten gezeigt wird, nach der Hydrolyse des Zuckeresters und Behandeln mit Phenylhydrazin dasselbe Osazon entsteht, wie bei der Spaltung des Hydrazidoosazons mit Lauge, doch gelang es mir noch nicht, es im krystallinischen Zustand darzustellen.

Was endlich die Zusammensetzung des zweiten Niederschlages betrifft, so ergab die Analyse, daß es Glyoxalosazon ist. Die Substanz wurde 2 mal aus Aceton und Alkohol umkrystallisiert. Schmelzpunkt 175°.

Substanz 0,1084 g; 22,4 ccm N (17°, 743 mm).

Substanz 0,1362 g; CO_2 — 0,3520 g; H_2O — 0,0730 g.

$C_{14}H_{14}N_4$:	Berechnet	Gefunden
	C — 70,59	70,48
	H — 5,75	5,96
	N — 23,53	23,43

Der Umstand, daß das Glyoxalosazon nur bei längerem Sieden erscheint und daß seine Menge mit der Stärke der Lauge und der Zeit des Erwärmens sehr stark wächst, spricht deutlich dafür, daß es nicht primär, sondern sekundär entsteht, infolge der Zertrümmerung des

[1]) Nach der Einwirkung des Alkali.

[2]) Das Erscheinen des Glucosazons in alkalischer Lösung wurde meines Wissens noch nie beobachtet.

Osazonmoleküls, was bei der Abspaltung der Phosphorsäure leichter eintritt als sonst, da das Osazon, das bei der Spaltung des Hydrazidoosazons zuerst erscheint, mit stärkerer Kalilauge in alkoholischer Lösung längere Zeit auf dem Wasserbade gekocht, kein Glyoxalosazon bei der Verdünnung mit Wasser liefert. Dagegen liefert das Hydrazidoosazon unter diesen Umständen reichlich Glyoxalosazon.

Da die Menge des zuerst infolge der Einwirkung der Kalilauge abgeschiedenen Osazons, wie oben gezeigt, wider Erwarten im Verhältnis zur angewandten Menge des phosphorhaltigen Osazons zu klein war, so versuchte ich mit Erfolg das letztere wieder zu gewinnen.

Das klare Filtrat habe ich mit Essigsäure schwach angesäuert; dabei fiel eine gelbe gallertartige Masse aus, die sich im Überschuß der Säure mit orangeroter Farbe löste. Diese Gallerte habe ich abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen (sie ist ziemlich wasserlöslich), in einen Erlenmeyerkolben gebracht und mit 96%igem Alkohol übergossen, um sie aufzulösen. Es fiel mir nach einiger Zeit auf, daß die ganze breiartige Masse hellgelb geworden war. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß sie zum größten Teil in Büschel von langen Nadeln umgewandelt war. Ich habe den Niederschlag abfiltriert und ihn bei Siedetemperatur in Alkohol bis auf einen kleinen Rest aufgelöst. Dann wurde filtriert und das klare Filtrat stehen gelassen. Bald darauf, beim Erkalten, schied sich eine Gallerte ab, die nach einiger Zeit krystallinisch wurde. Diese Operation habe ich noch 3mal wiederholt, wobei jedesmal das Umwandeln der Gallerte in die Krystalle schneller vor sich ging. Das so erhaltene Produkt habe ich analysiert und den Schmelzpunkt bestimmt. Es ergab sich, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist, daß es das ursprüngliche Osazon war.

Substanz (Schmelzpunkt 152°): 0,1546 g; CO_2 — 0,2974 g; H_2O — 0,0800 g;
„ 0,1325; 18,2 ccm N (21°, 753 mm);
„ 0,1852; $Mg_2P_2O_7$ — 0,0372 g.

$C_{24}H_{31}N_6O_7P$:

Berechnet	Gefunden
C = 52,75	C = 52,46
H = 5,68	H = 5,75
N = 15,38	N = 15,51
P = 5,68	P = 5,60

Das Osazon gibt, nach der Behandlung mit Kalilauge, reichliche Mengen von Glyoxalosazon, jedoch kein Hexosazon.

Jetzt tritt die Frage auf, ob das bei der Einwirkung des Alkali zuerst erscheinende einfache Osazon von der Spaltung des zusammengesetzten herrührt. Wenn man bei der Beantwortung dieser Frage im Auge behält, daß das Osazon aus ganz klarer alkalischer Lösung beim Erwärmen ausfällt, d. h. daß eine vorhergehende Spaltung unbedingt stattfinden muß, so gelangt man zu der Ansicht, daß das Osazon sich nicht als eine Verunreinigung darstellt; es könnte höchstens sein, daß ein Gemenge von zwei verschiedenen Zuckerphosphorsäureestern vorliegt. Doch darf man den Vorgang so auffassen, daß von Anfang an wirklich eine Spaltung des zusammengesetzten Osazons stattfindet, aber bald darauf erleidet sein Molekül eine Umwandlung in eine stabilere, bzw. widerstandsfähigere Form. Es wird, zur Entscheidung der Frage, aus dem Hydrazidoosazon, nach der Einwirkung des Alkali, das entsprechende Oson dargestellt und mit dem oben beschriebenen verglichen werden.

Schließlich habe ich versucht, die Spaltung des Esters selbst durch Kalilauge, Schwefelsäure, durch Erhitzen im Einschlußrohr bei neutraler Reaktion und durch Einwirkung von Lipaseemulsion[1]) herbeizuführen, um von dem abgespaltenen Zucker das Osazon darzustellen. Beim einstündigen Erwärmen der wässerigen Lösung des Esters mit $^{n}/_{10}$-Kalilauge entstand ein schwarzer, humusartiger Niederschlag. Die Flüssigkeit gab nach dem Abfiltrieren und Neutralisieren mit Essigsäure bei Erwärmen mit Phenylhydrazin auf dem Wasserbade kein Osazon mehr. Dasselbe negative Resultat wurde beim Erwärmen der neutralen Lösung im Einschlußrohre (6 Stunden bei 140°) erzielt. Die Lipaseemulsion (von den Vereinigten chemischen Werken) hat keine merkliche Spaltung des Esters herbeigeführt.

Versuch: 50 ccm der wässerigen Zuckeresterlösung wurden mit Soda neutralisiert, einige Tropfen 50%iger Essigsäure zugesetzt, mit 15 ccm frischer Lipaseemulsion und 0,25 ccm Toluol gemischt und 72 Stunden bei 25° geschüttelt. Dann kurz aufgekocht, klar filtriert und mit Phenylhydrazin behandelt. Es entstand, wie gesagt, fast ausschließlich dasselbe Osazon vom Schmelzpunkt 152°. Diesen Versuch werde ich in anderer Anordnung wiederholen. Herrn Dr. Wiedermann

[1]) Vgl. E. Buchner und F. Klatte, diese Zeitschr. 8, 520, 1908.

spreche ich für die mir freundlich überlassene Lipaseemulsion meinen aufrichtigen Dank aus.

Mit $^n/_2$-Schwefelsäure wird nach einstündigem Erwärmen auf dem Wasserbade die wässerige Lösung des Esters ziemlich braun, doch entsteht nur sehr wenig Niederschlag. Mit $BaCO_3$ neutralisiert und mit 1 Volumen Aceton versetzt, gab sie, nach Abfiltrieren und Wegjagen des Acetons im Vakuum, mit Phenylhydrazin das Osazon mit demselben Schmelzpunkt und gleicher Drehung wie das, das zuerst bei der Spaltung durch Kalilauge des Hydrazidoosazons entsteht. Ich habe außerdem versucht, nach der von Joung[1]) angewandten Methode den Ester zu spalten; seine wässerige Lösung wurde nämlich 8 Stunden in einem Rundkolben mit eingeschliffenem Rohr auf dem kochenden Wasserbade erwärmt, mit Barytwasser neutralisiert, mit 2 Volumen Alkohol versetzt, abfiltriert und der letztere im Vakuum abdestilliert. Die zurückgebliebene Flüssigkeit gab mit Phenylhydrazin das Hexosazon mit den oben beschriebenen Eigenschaften.

Meiner Ansicht nach bleibt die Frage vorläufig noch offen, ob es mit Glucosazon identisch ist, bis die Osazone mit anderen Phenylhydrazinderivaten dargestellt sind. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es ein Isomeres des Glucosazons ist.

Der von mir isolierte Zuckerester gibt mit Phenylhydrazin momentan schon in der Kälte ein weißes Hydrazon, das leider amorph ist. Mit p-Bromphenylhydrazin bei gleichen Verhältnissen gibt er ein krystallinisches Hydrazon, das in langen weißen Nadeln krystallisiert. Es ist im kalten Wasser schwer, in warmem leicht löslich, ebenso wie im Methylalkohol. Das Hydrazon wurde abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen, auf Ton im Vakuum getrocknet; Schmelzpunkt 128° unter Zersetzung. Die Versuche, es aus methylalkoholischer Lösung durch Wegjagen des Lösungsmittels im Vakuum umzukrystallisieren, scheiterten bis jetzt, da es sich in dieser Lösung schon bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich rasch in Bromphenylosazon umwandelt. Das letztere ist rein gelb und besitzt (nicht umkrystallisiert) den Schmelzpunkt 165°. Ich habe versucht, das nicht umkrystallisierte Bromphenylhydrazon zu

[1]) l. c. S. 535.

analysieren,[1]) doch habe ich dabei einen zu hohen Gehalt bekommen und darum auf weitere Analysen verzichtet.

Substanz 0,1997 g; $Mg_2P_2O_7$ — 0,0528.

Substanz 0,1706 g; 12,8 ccm N; (27°, 757 mm).

$C_{12}H_{18}N_2BrPO_8$:	Berechnet	Gefunden
	N — 6,53	8,31
	P — 7,23	7,36

Mit Benzylphenylhydrazin nach dem Verfahren von O. Ruff und G. Ollendorf[2]) in neutraler Lösung konnte ich vorläufig kein Hydrazon des Esters darstellen.

Aus allem oben Gesagten geht hervor, daß die Zusammensetzung des Zuckeresters, der bei der Gärung auftritt, folgende ist: 1 Mol. Hexose auf 1 Mol. Phosphorsäure. Es liegt dabei auf der Hand, daß die Phosphorsäure nicht an die benachbarten Gruppen gebunden ist, die mit Phenylhydrazin reagieren. Nach Joung[3]) dagegen sollten auf 1 Mol. Hexose 2 Mol. Phosphorsäure kommen, die gerade an diese Gruppe gebunden sind.

Damit würden aber auch die Gleichungen unhaltbar, die nach Harden und Joung den Mechanismus der Gärung veranschaulichen sollen, nämlich:

1. $2C_6H_{12}O_6 + 2R_2'HPO_4 = 2CO_2 + 2C_2H_6O +$
$+ C_6H_{10}O_4(PO_4R_2')_2 + 2H_2O$

2. $C_6H_{10}O_4(PO_4R_2')_2 + 2H_2O = C_6H_{12}O_6 + 2PO_4HR_2'$.[4])

Die Rolle der Phosphorsäure liegt bei dem Gärungsprozesse höchstwahrscheinlich nur darin, daß Dextrose bzw. Lävulose durch den Übergang in die Esterform mit nachstehender Spaltung in eine unstabile Modifikation übergeführt wird, die ihrerseits viel leichter durch ein entsprechendes Enzym gespalten wird. Denn es ist kaum denkbar, daß die Spaltung des Zuckermoleküls bis zur Kohlensäure und Alkohol ohne Zwischenprodukte vor sich geht. Wenn nun von beiden Reaktionen die eine — Spaltung des Esters — mit meßbarer Geschwindigkeit vor sich geht, was in Wirklichkeit der Fall ist, die zweite aber praktisch mit unendlich großer Geschwindigkeit sich abspielt, so wird man nie imstande sein, die Zwischen-

[1]) Die Substanz wurde im Vakuum bei 37° unter Durchleitung von durch Phosphorpentoxyd getrockneter Luft getrocknet. Sie war schneeweiß, doch schon am nächsten Tage ist sie gelblich geworden.

[2]) l. c.

[3]) l. c., S. 543.

[4]) Proc. Roy. Soc. 80, 299, 1908.

produkte zu isolieren. Nur eine einzige Möglichkeit besitzt man, um das zu erzielen, man muß auch die zweite Reaktion durch einen geeigneten spezifischen negativen Katalysator zu verlangsamen und dadurch meßbar zu machen versuchen. Die Versuche nach dieser Richtung hin habe ich in Angriff genommen.

Freilich könnte man annehmen, daß bei der Einwirkung des Phenylhydrazins bei dem Erwärmen auf dem Wasserbade 1 Mol. der Phosphorsäure abgespalten wird, doch sollte bei diesen Verhältnissen ein Hydrazid der Phosphorsäure erscheinen, was aber nicht der Fall ist

Die von Joung angewandte Methode bietet keine Bürgschaft dafür, daß der von ihm dargestellte Ester rein war, um so mehr, als die von ihm analysierten Salze des Esters mit Silber, Blei, Barium und Calcium amorph sind. Wie ich schon in der letzten Arbeit nachgewiesen habe,[1]) enthält die gärende Flüssigkeit einen kolloidalen Stoff in Lösung, der mit Jod keine Reaktion gibt und nach der Hydrolyse mit starken Mineralsäuren Zucker liefert. Dieses Kolloid ist aber mit Bleiacetat fällbar. Nach 3stündiger Hydrolyse auf dem Wasserbade mit 2,5n-Schwefelsäure und nachfolgendem Neutralisieren mit Bariumcarbonat gibt es mit Phenylhydrazin eine weiße, im warmen Wasser lösliche Substanz, die, dreimal aus 96 $^0/_0$ igem Alkohol umkrystallisiert, den Schmelzpunkt 205 bis 207° (unter Zersetzung) besitzt und Phosphor enthält; danach sollte es ein Hydrazon oder Hydrazid sein. Sie krystallisiert in langgestreckten Blättchen, die in schöne Sterne zusammenwachsen. Außerdem entstand dabei ein Osazon. Die Analyse dieser beiden Substanzen ist noch nicht abgeschlossen, jedoch steht ohne Zweifel fest, daß das sog. Polysaccharid Phosphor enthält. Es ist daher wahrscheinlich, daß es auch ein Zuckerester ist, aber von komplizierterer Natur. Bei meinen früheren kinetischen, noch nicht veröffentlichten Untersuchungen, konnte ich feststellen, daß dieses „Polysaccharid" eine große Rolle bei der Gärung spielt, denn am Anfang nimmt es stetig ab, am Ende der Gärung nimmt es aber stark zu. Der letzte Vorgang, d. h. die Zunahme, wurde schon von Artur Harden und William Joung beobachtet[2]) und später von Eduard Buchner und Jacob Meisenheimer bestätigt.[3])

---

[1]) l. c. S. 119 bis 120.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 1052, 1904.

[3]) Ibid. 39, 3201, 1906.

In meiner letzten Abhandlung habe ich die Methode, nach der ich den Zuckerester, bzw. das Hydrazidoosazon isoliert habe, kurz beschrieben,[1]) doch habe ich sie später vereinfacht, da es sich weiter herausstellte, daß, erstens, das „Polysaccharid" kein Osazon gibt, zweitens, daß das Hydrazidoosazon des Produktes aus Dextrose identisch ist mit dem aus Lävulose. (Beide Osazone wurden umkrystallisiert und nach Schmelzpunkt und Stickstoffbestimmung identifiziert.) Infolgedessen scheint es mir nicht überflüssig zu sein, die Methode hier zu beschreiben, wie ich sie jetzt anwende.

Ich nehme 150 g lufttrockene Hefe auf 1 Liter Wasser, und füge 210 g Rohrzucker und 105 g Natriumphosphat (2 Teile zweibasisches auf 1 Teil einbasisches) hinzu und lasse im Thermostaten bei 25° C stehen. (Man kann ebensogut bei Zimmertemperatur stehen lassen, nur zieht sich die Gärung dann länger hin, besonders im Winter.) Nach 3 bis 4 Stunden nehme ich eine Probe, filtriere durch ein Faltenfilter und füge etwas Magnesiamischung hinzu; wenn kein merklicher Niederschlag bei dem Zusatz entsteht, so koche ich die gärende Flüssigkeit etwa 1/4 Stunde, filtriere durch ein Faltenfilter die übriggebliebene Hefe und geronnene Eiweißstoffe ab, wickele den Rückstand in ein Preßtuch und presse mit einer kleinen Porzellanhandpresse aus. Im ganzen bekommt man ca. 700 ccm klaren Filtrats. Nun setze ich dazu das gleiche Volum Aceton, schüttele und lasse stehen. Nach einiger Zeit scheiden sich ca. 300 ccm dicker brauner Flüssigkeit ab; die überstehende Schicht gieße ich ab, setze wieder Wasser zu und fälle mit Aceton usw. 2 bis 3 Mal. Dabei wird die untere Flüssigkeitsschicht heller, auch die übriggebliebenen Phosphate werden zum größten Teil entfernt. Zu der so gereinigten dicken, gelben Flüssigkeit setze ich eine sehr konzentrierte warme Lösung von Bleiacetat unter Umrühren zu. Es bildet sich sogleich eine gelbliche, dicke Masse. Sie wird auf der Nutsche abgesaugt und durch schwache Bleiacetatlösung ausgewaschen, bis das Filtrat wasserklar wird und Fehlingsche Lösung nach der Entfernung des Blei nicht mehr reduziert wird. Diese beiden Merkmale fallen gewöhnlich zusammen. (Das Bleisalz des Zuckeresters ist nämlich in Wasser ziemlich löslich, und gerade diesen Umstand benutzte ich in den Fällen, als ich den Ester von der ihn immer begleitenden Phosphorsäure befreien wollte.)

Den ausgewaschenen weißen Niederschlag zerreibe ich mit dem Pistill in einer Porzellanschale mit Wasser zu einem nicht zu dicken Brei, gieße in eine 1-Liter-Milchflasche mit Gummiverschluß, schüttele 1 Stunde lang auf dem Schüttelapparat und leite Tag und Nacht H_2S ein, bis alles zersetzt ist, was man daran erkennt, daß die Flüssigkeit nach dem kräftigen Schütteln in zugestopfter Flasche noch stark nach H_2S riecht. Die Zersetzung dauert 24 Stunden und mehr. Nachdem der Nieder-

[1]) l. c. S. 120 bis 121.

schlag abfiltriert ist, vertreibe ich den in der Lösung verbliebenen H_2S durch Durchleiten von Luft, setze dann etwas Tierkohle zu und filtriere wieder; das Filtrat war gewöhnlich wasserklar. Auf 200 bis 250 ccm des Filtrates nahm ich 20 g Phenylhydrazin und ebensoviel 50 %ige Essigsäure und erwärmte auf dem Dampfbade bis zum Sieden; das genügt schon, um eine vollständige Umwandlung des Esters in das entsprechende Osazon herbeizuführen. Bei Siedetemperatur bleibt fast alles Osazon in Lösung, nur auf der Oberfläche bildet sich eine dicke Haut. Beim Erkalten oder Hinzufügen von Wasser füllt sich bald die ganze Flüssigkeit mit großen Büscheln der gelben Nadeln und wird, in Eis gestellt, zu einem dicken Brei. Dann filtriere ich durch ein Porzellansieb, wasche mit Wasser, Alkohol und Äther, bis das Filtrat nur leicht gelblich wird. Die Ausbeute ist gut, nämlich aus 100 ccm von Aceton gefällter Flüssigkeit bekommt man ca. 30 g Osazon, d. h. aus 210 g Rohzucker und 105 g Phosphat bis 90 g Osazon. Wenn man nicht den Ester selbst, sondern sein Osazon darstellen will, so wird es auch genügen, nur einmal die ausgekochte Flüssigkeit mit Aceton zu fällen. Man kann statt 210 g Zucker 300 g + 150 g Phosphat nehmen, doch zieht sich dann die Gärung sehr lange hin, und erst nach einer Nacht verschwindet die freie Phosphorsäure, dafür aber bekommt man selbstverständlich noch mehr Ester. Statt trockener Hefe kann man ebenso gut die frische Preßhefe anwenden in dreifacher Menge (1 Teil der lufttrockenen Hefe entspricht durchschnittlich 3 Teilen frischer Preßhefe). Es ist aber aus manchen Gründen die trockene Hefe vorzuziehen. Ich bereite sie so vor, daß ich die frische Preßhefe durch ein 5-mm-Sieb durchsiebe und sodann auf dem Filtrierpapier in dünner Schicht ausbreite. Nach 2 bis 3 Tagen ist sie schon trocken und behält ihre Wirksamkeit sehr lange — 1 Jahr und mehr. Damit ist die Möglichkeit gegeben, mit Hefen von verschiedener Herkunft zu arbeiten, um ihre Eigenschaften parallel zu prüfen.

Wenn man die Gärung in der Mitte unterbricht, so wird durch Aceton, wie gesagt, viel Ester gefällt, wenn man aber weiter gären läßt und die Fällungen von Zeit zu Zeit macht (mit Zwischenzeiten von 3 bis 4 Stunden), so wird dann immer weniger gefällt, und wenn alles vergoren ist, so wird überhaupt kein Ester mehr gefällt. Das ist der beste Beweis, daß der nach meiner Methode abgeschiedene Zuckerester vergärbar ist. Das entspricht auch den direkten Bestimmungen des entwickelten CO_2 und zurückgebliebenen Zuckers, die ich gleichzeitig kinetisch bestimmte.[1])

Die Menge des in der Lösung in bestimmten Zeitintervallen noch bleibenden Zuckers kann man nach zwei Methoden bestimmen, einmal indirekt, indem man den zersetzten Zucker nach der entwickelten Menge der Kohlensäure berechnet und von dem von Anfang an vorhanden gewesenen abzieht. Trägt man die so ermittelte Menge des Zuckers auf die Ordinate auf, die Zeit auf die Abszisse, so ergibt sich die Kurve *AB* (Fig. 1). Wenn man aber den vorhandenen Zucker in gärender Flüssig-

[1]) Diese Zeitschr. 10, 456, 1908.

keit bestimmt (ich habe diese Bestimmungen nach Bangs[1]) etwas von mir abgeänderter Methode ausgeführt), so bekommt man die Kurve *AC* (Fig. 1). Die Differenz der beiden Kurven zeigt offenbar, daß in der Lösung ein Produkt vorhanden ist, das nicht mehr ursprünglicher Zucker ist, aber auch noch in CO_2 und Alkohol zersetzt wird. Dieses Produkt ist eben die Zwischenverbindung, nämlich der Ester, der ein kleineres Reduktionsvermögen als Zucker hat. Ist nun in der Lösung die Hälfte des Zuckers vergoren, so sind ca. 20 % der ursprünglichen Zuckermenge, scheinbar, nach dem Reduktionsvermögen berechnet, verschwunden, ohne die entsprechende Menge der CO_2 und des Alkohols zu liefern. Dieser Verlauf der Kurven ist charakteristisch für die konsekutiven Reaktionen mit der Bildung des Zwischenproduktes.

Fig. 1.

Das Diagramm gibt die Kurven eines Versuches wieder.[2]) Ähnlich verlaufen die Kurven, die nach von mir zahlreich ausgeführten, noch nicht veröffentlichten Versuchen berechnet sind. Dabei habe ich auch das Entstehen des sog. Polysacharids berücksichtigt, wovon an anderer Stelle die Rede sein wird.

Wenn, wie oben gesagt, die durch Aceton gefällte Flüssigkeit mit Bleiacetat versetzt wird und der Niederschlag abfiltriert, so bekommt man ein gelbes, klares Filtrat. Ich habe nun versucht, ob es noch unveränderten Zucker enthält. Ich habe ihn ebenso mit H_2S behandelt, von Bleisulfid abfiltriert und mit Phenylhydrazin auf dem Wasserbade 1 Stunde erwärmt. Es entstand reichlich ein Osazon, das nach 3-maligem Umkrystallisieren aus wasserhaltigem Alkohol den Schmelzpunkt 210° gab.

Substanz 0,1525 g; 21,1 ccm N (22°, 754 mm).

$C_{18}H_{22}N_4O_4$	Berechnet	Gefunden
	N — 15,64	15,57

[1]) Diese Zeitschr. 2, 275, 1907.

[2]) Für diesen Versuch wurde der Preßsaft aus der Hefe der Schultheiß-Brauerei, A.-G., Berlin, angewandt.

Die Analyse spricht dafür, daß es das Glucosazon ist. Man sieht daraus, daß eine vorhergehende Spaltung der Dextrose bzw. Lävulose nicht eintritt.

Vor einiger Zeit haben C. Neuberg und H. Pollak[1]) mehrere Zuckerester synthetisch dargestellt, darunter auch Glucosephosphorsäure. Es war von Interesse, zu prüfen, ob diese mit der bei der Gärung auftretenden identisch ist. Darum habe ich nach der von Neuberg und Pollak angegebenen Methode das glucophosphorsaure Calcium, $C_6H_{11}O_9PCa + 2H_2O$, dargestellt und mit Phenylhydrazin in saurer Lösung beim Erwärmen behandelt. Es entstand ein Osazon, das nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol und einem Gemische von Alkohol mit Pyridin den Schmelzpunkt 208° gab, d. h. Glucosazon ist. In der Kälte bildet sich kein schwerlösliches Hydrazon.

Daß das von Neuberg und Pollak früher synthetisch hergestellte Glucophosphat nicht mit dem nach meiner Methode bei der Alkoholgärung isolierten Hexosephosphat identisch ist, geht deutlich auch daraus hervor, daß es nach ihren Angaben viel leichter[2]) hydrolysierbar ist (schon 4-stündiges Kochen genügt, um 87 % Phosphorsäure abzuspalten), durch Bleiacetat[2]) nicht gefällt wird und durch die Hefe nicht vergärbar ist.[2]) Jedenfalls ist von C. Neuberg der Weg gezeigt, auf dem wahrscheinlich auch zur Synthese natürlich vorkommender Zuckerester zu gelangen möglich sein wird.

In der nächsten Mitteilung werde ich über die Eigenschaften des Osons und des aus ihm dargestellten Hexosephosphorsäureesters berichten.

---

[1]) Diese Zeitschr. 23, 515, 1909; 27, 1910; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 2060, 1910.

[2]) Neuberg und Pollak, l. c. S. 2062 bis 2063.

Über das Vorkommen von Serin im menschlichen Schweiße.

Von

Gustav Embden und Hermann Tachau.

(Aus dem städtischen chemisch-physiologischen Institut und der medizinischen Klinik des städtischen Krankenhauses in Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 18. August 1910.)

Bei den bisherigen Untersuchungen über die stickstoffhaltigen Bestandteile des Schweißes sind — von geringfügigen Eiweißmengen abgesehen — nur zwei Substanzen, Harnstoff und Ammoniak, mit Sicherheit erkannt worden. Da nun ein nicht ganz unerheblicher Teil des Gesamtstickstoffs weder der Harnstoff- noch der Ammoniakfraktion zugehört, erschien es wünschenswert, diesen stickstoffhaltigen Rest näher kennen zu lernen.

Von vornherein lenkten wir dabei unser Augenmerk auf das Vorhandensein von Aminosäuren, um so mehr, als in neuerer Zeit sowohl für den Harn[1]) wie auch für das Blut[2]) die Gegenwart von freien Aminosäuren, wenigstens von Glykokoll, durch Isolierung des β-Naphthalinsulfons erwiesen wurde. Dieser Nachweis hat für den Harn durch die Ergebnisse der Formoltitrierung volle Bestätigung gefunden.

Wir wandten zum Aminosäurennachweis diejenige Methode an, die sich bisher für den Nachweis kleiner Aminosäurenmengen in Harn und Blut als die bei weitem zuverlässigste erwiesen hat, die Überführung in die Naphthalinsulfone nach Fischer und Bergell.

---

[1]) Embden und Reese, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 412. — Embden und Marx, dieselbe Zeitschr. 11, 308.

[2]) Bingel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 382.

Im einzelnen verfuhren wir folgendermaßen:

Die Patienten, meistens an leichten Erkältungskrankheiten Leidende, die kein Medikament erhalten hatten, wurden nach einem Reinigungsbade nackt auf eine Gummiunterlage ins Bett gelegt und mit einem elektrischen Lichtkasten bedeckt. Vor Beginn des Schwitzens erfolgte eine reichliche Wasseraufnahme. Nach 1 Stunde wurde das Lichtbad unterbrochen, das Gummituch vorsichtig unter dem Patienten hervorgezogen und der Schweiß, der sich auf demselben angesammelt hatte, in ein Glasgefäß gegossen. Die Menge des so gewonnenen Schweißes schwankte zwischen 150 und 750 ccm.

Unmittelbar nach seiner Gewinnung wurde der Schweiß ins Laboratorium gebracht und mit Bleizucker gefällt. Auf je 100 ccm Schweiß kamen 5 ccm einer 10%igen Bleizuckerlösung, die, wie wir uns jedesmal überzeugten, zur vollständigen Klärung des Schweißes genügten. Das Filtrat von dem ziemlich geringfügigen Bleiniederschlag wurde nach mehrmaligem Filtrieren stets völlig klar gewonnen, mit Schwefelwasserstoff entbleit, und durch einen Luftstrom vom überschüssigen Schwefelwasserstoff befreit. Nunmehr wurde der Schweiß in einem Verdunstkasten durch einen kräftigen, von einem Ventilator erzeugten warmen Luftstrom eingeengt. Die Temperatur der Flüssigkeit bei der Einengung betrug in maximo 34 bis 35° C. Die Einengung geschah äußerst rasch, da der Verdunstapparat pro Stunde mehr als $^1/_2$ l Flüssigkeit zur Verdampfung brachte. Der etwa auf $^1/_6$ bis $^1/_{10}$ seines Volumens eingeengte Schweiß wurde nunmehr zunächst mit nur so viel Natronlauge versetzt, daß blaues Lackmuspapier eben nicht mehr gerötet wurde, dann wurde, ganz entsprechend den Vorschriften von Embden und Reese, so viel Normalnatronlauge hinzugefügt, daß rotes Lackmuspapier kräftig gebläut wurde. Im Gegensatz zum Harn sind für den Schweiß hierfür nur ganz geringe Mengen Natronlauge nötig, wir kamen meistens mit etwa 2 bis 3 ccm Normalnatronlauge, auf das Liter nativen Schweißes berechnet, aus. Nach der Alkalisierung wurde zur Entfernung der geringen ausgefallenen Phosphatmengen filtriert und die Flüssigkeit in der üblichen Weise mit einer 10%igen ätherischen Lösung von β-Naphthalinsulfochlorid geschüttelt. Die Alkalescenz nahm während der ersten Zeit des Schüttelns sehr rasch ab, sobald rotes Lackmuspapier nicht mehr blau, sondern nur noch violett gefärbt

wurde, erfolgte der Zusatz einer geringen Menge (meist zirka 1 ccm) Normalnatronlauge. Die Temperatur bei der Schüttelung mit Naphthalinsulfochlorid betrug ca. 22 bis 25° C. Die Schüttelung wurde ca. 1 Stunde fortgesetzt. Nach dieser Zeit war die Flüssigkeit meist von ausgeschiedenem Naphthalinsulfamid, wohl auch von naphthalinsulfosaurem Natrium getrübt.

Die wässerige Schicht wurde von der ätherischen im Scheidetrichter getrennt, was manchmal durch Emulsionsbildung erschwert war, und klar filtriert. Das klare Filtrat wurde wieder in den Scheidetrichter gebracht, mit Salzsäure stark angesäuert, wobei, genügende Einengung des Schweißes vorausgesetzt, stets eine sehr starke Fällung eintrat, die sofort in Äther aufgenommen wurde. Die Ausschüttelung wurde mit neuen Portionen Äther noch 1 bis 2 mal wiederholt, die vereinigten Ätherextrakte filtriert. Die klare, meist völlig oder nahezu farblose, ätherische Lösung wurde unter Zusatz von ca. 20 ccm Wasser destilliert. Nach der Entfernung des Äthers verblieb stets eine reichliche Menge eines hellgefärbten Öles, die beim Erkalten des Wassers erheblich zunahm. Der Destillationsrückstand wurde nach dem Abkühlen bis zur stark alkalischen Reaktion mit Ammoniak versetzt, wobei die Hauptmasse des Öles in Lösung ging. Die ungelöste Substanz hatte sofort körnig-krystallinische Beschaffenheit. Die ammoniakalische Flüssigkeit wurde nunmehr mit Äther geschüttelt, wobei die ungelöste Substanz oft schon beim Schütteln mit der ersten Ätherportion, manchmal auch erst bei wiederholtem Schütteln mit Äther in Lösung ging. Waren sehr reichliche Mengen in Ammoniak unlöslicher Substanz vorhanden, so erwies es sich als zweckmäßig, die Flüssigkeit vor der Ätherschüttelung zu filtrieren. Die Schüttelung der ammoniakalischen Flüssigkeit mit Äther wurde stets mindestens 4 mal vorgenommen. Der Rückstand der ätherischen Lösung bestand im wesentlichen aus β-Naphthalinsulfamid, doch enthielt er möglicherweise auch eine andere Verbindung des Ammoniaks, von der weiter unten die Rede sein wird. Die amidfreie, völlig klare Lösung wurde wiederum im Scheidetrichter mit Salzsäure angesäuert und die beim Ansäuern ausfallende Naphthalinsulfoverbindung wieder in Äther aufgenommen.

Die vereinigten Ätherextrakte wurden wiederholt mit ganz wenig Wasser gewaschen, wenn nötig filtriert und der Äther bis auf wenige Kubikzentimeter durch Destillation verjagt. Aus der ätherischen Lösung fielen oft sofort, öfters auch erst nach längerem Stehen bei Zimmer- oder Eisschranktemperatur Krystalle aus. Die Krystallisation war meist nach 24stündigem Stehen im Eisschrank beendet. Die Krystalle wurden nun abgesaugt und erwiesen sich jetzt als in Äther außerordentlich schwer löslich, so daß sie ohne weiteres mit reichlichen Äthermengen wiederholt gewaschen werden konnten. An die Ätherwaschung schloß sich noch eine Waschung mit niedrig siedendem Petroläther an. Die oft völlig oder fast farblose Substanz schmolz zunächst meist ziemlich unscharf in der Nähe von 210° C. Ihre Reinigung gelang sehr leicht durch Umkrystallisieren aus stark verdünntem (ca. 20 bis 30%) Alkohol. Für größere Mengen erwies sich das Umkrystallisieren aus nahezu konzentriertem Alkohol ebenfalls als sehr zweckmäßig.

Nach ein- bis zweimaligem Umkrystallisieren schmolz die Substanz ziemlich scharf bei 213 bis $213^{1}/_{2}$°, korrigiert bei 220°.

Die Elementaranalyse eines in der geschilderten Art gewonnenen Präparates hatte folgendes Ergebnis:

0,1328 g der Substanz ergeben 0,2594 g CO_2,
0,0554 g H_2O.

0,1980 g verbrauchen bei N-Bestimmung nach Kjeldahl . . 6,7 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4,

0,1558 g geben bei S-Bestimmung nach Ascott . . . 0,1227 g $BaSO_4$.

	C	H	N	S
Gefunden:	53,27%	4,66%	4,73%	10,82%
Berechnet für $C_{10}H_7SO_2NHCH.COOH$ CH_2OH:	52,88%	4,40%	4,76%	10,85%

Wie man sieht, stimmen die gewonnenen Analysenwerte mit denen des β-Naphthalinsulfoserins überein. Auch der Schmelzpunkt bei 220° ist mit dem, den Abderhalden für β-Naphthalinsulfoserin angibt, identisch. Somit ist der

Nachweis von Serin im Schweiße und damit überhaupt zum ersten Male der Nachweis von Serin in einer nativen tierischen Flüssigkeit erbracht worden. Die Isolierung dieser im allgemeinen nicht ganz leicht aus Gemischen gewinnbaren Substanz gelingt aus Schweiß mittels der β-Naphthalinsulfochloridmethode in der oben angegebenen Weise mit ganz besonderer Leichtigkeit. Wir möchten noch hervorheben, daß das Vorkommen des Serins im Schweiße ein konstanter Befund ist. Wir haben sehr zahlreiche Einzelportionen von Schweißen Gesunder und Kranker untersucht und niemals Serin vermißt.

Die Ausbeute an völlig reinem β-Naphthalinsulfoserin ist wegen der beim Umkrystallisieren unvermeidlichen großen Verluste keine sehr bedeutende. An nicht völlig, aber seinem Verhalten nach doch annähernd reinem Rohprodukt wurden aus 1 l Schweiß ca. 0,33 g Naphthalinsulfoserin gewonnen, von dem richtig schmelzenden Produkt etwa die Hälfte. Die Kohlenstoff-Wasserstoffbestimmung von diesem nicht weiter gereinigten Präparat hatte folgendes Ergebnis:

0,1182 g der Substanz ergeben 0,2308 g CO_2,
0,0492 g H_2O.

Gefunden: 53,25 % C, 4,65 % H,

Berechnet für
$C_{13}H_{13}O_5SN$: 52,88 % C, 4,40 % H.

Eine weitere Bestimmung an 1 l Schweiß ergab 0,09 g ziemlich reinen β-Naphthalinsulfoserins.

Die Mutterlauge, die die gesamten übrigen Aminosäuren enthalten mußte, enthielt im ersten Falle 24,64 mg N, im zweiten 32,06 mg N. Jedenfalls ist also ein sehr großer Teil des Aminosäurestickstoffs im Schweiß als Serin vorhanden.

War das im Schweiße vorkommende Serin optisch aktiv? Ein anscheinend völlig reines Produkt zeigte in alkoholischer Lösung sehr deutliche Linksdrehung, jedoch war bei der geringen für diesen Zweck zur Verfügung stehenden Substanzmenge die Menge zur Berechnung der spezifischen Drehung nicht ausreichend groß. Zur Entscheidung dieser Frage werden noch weitere Versuche nötig sein; doch spricht der Schmelzpunkt von 220° durchaus dafür, daß es sich in der Tat um optisch aktives β-Naphthalinsulfoserin handelt.

Daß außer dem Serin noch andere Aminosäuren im Schweiß vorhanden sind, ist schon wegen der auffallend starken Linksdrehung der ammoniakalischen und alkoholischen Lösungen der aus Schweiß gewinnbaren Reaktionsprodukte wahrscheinlich.

Gelegentlich der eben geschilderten Versuche stießen wir auf eine Substanz, die sich bald als das bisher noch unbekannte Imid der β-Naphthalinsulfosäure herausstellte. Die Darstellung dieser Substanz ist sehr einfach. Man schüttelt Ammoniak oder eine NH_3-haltige tierische Flüssigkeit (Schweiß, Harn) längere Zeit (24 Stunden und länger) mit großen Mengen β-Naphthalinsulfochlorid unter den gewöhnlich angewandten Alkalizusatz. Dann stellt man in der oben geschilderten Weise die amidfreie ätherische Lösung der Reaktionsprodukte dar, und schüttelt nun diese ätherische Lösung mit größeren Mengen Wasser. Das Amid geht dann relativ leicht in die wässerige Schicht über und läßt sich durch starkes Ansäuern des Wassers mit 25%iger Salzsäure abscheiden. Die Abscheidung ist zunächst ölig, um sich bald in lange spießartige Nadeln umzuwandeln. Die durch Absaugen von der Flüssigkeit getrennten, gründlich (unter Verlust) mit destilliertem Wasser gewaschenen Krystalle schmelzen zunächst bei etwa 172°. Sie lassen sich sehr gut durch Umkrystallisieren aus warmem Benzol reinigen und schmelzen nunmehr bei 177° (korrigiert 180 bis 181°).

Die Elementaranalyse hatte folgendes Ergebnis:

0,1320 g ergaben 0,2932 g CO_2,
0,0470 g H_2O.

0,1964 g verbrauchten bei N-Bestimmung nach Kjeldahl . 5,1 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4.

	C	H	N
Gefunden:	60,57%	3,98%	3,63%
Berechnet für $C_{10}H_{15}O_4NS_2$:	60,45%	3,78%	3,53%.

Das Vorkommen des β-Naphthalinsulfimids ist für den Nachweis von Aminosäuren mittels der Naphthalinsulfochloridmethode nicht ohne praktische Bedeutung. Das β-Naphthalinsulfamid läßt sich durch gründliches Ausäthern der ammoniakalischen Lösung der Reaktionsprodukte in der von Embden angegebenen Weise stets ohne weiteres beseitigen. In der von

Amid befreiten Lösung können aber recht erhebliche Imidmengen zurückbleiben, die selbstverständlich bei der Isolierung von Aminosäuren aus dem Reaktionsgemisch störend wirken mußten. Die erhebliche Wasserlöslichkeit des Naphthalinsulfimids gestattet es aber, diese Substanz aus der sauren ätherischen Lösung, wie es scheint, mit großer Vollständigkeit zu entfernen. Gewisse Verluste an Naphthalinsulfonen, namentlich den leichter wasserlöslichen, werden sich hierbei freilich wohl nicht vermeiden lassen.

In 2 Fällen haben wir den Stickstoffgehalt der Gesamtmenge der gebildeten β-Naphthalinsulfone nach Abtrennung des Amids und möglichster Entfernung des Imids bestimmt. Im ersten Falle waren bei einem Gesamtstickstoffgehalt von 58,2 mg auf 100 ccm 4,2 mg, im anderen bei einem Gesamtstickstoffgehalt von 47,8 mg 3,65 mg Stickstoff als Aminosäurenstickstoff in 100 ccm vorhanden.

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Untersuchung besteht in dem Nachweis, daß sich aus völlig frischem, sorgfältig vor Zersetzung geschütztem menschlichem Schweiße relativ nicht unerhebliche Mengen von Serin als β-Naphthalinsulfoserin konstant gewinnen lassen. Die biologische Bedeutung und die Herkunft des Serins im Schweiße werden den Gegenstand besonderer Untersuchungen bilden.

Zum Schlusse wollen wir noch erwähnen, daß anscheinend die von uns angewendete Methode des Serinnachweises im Schweiße auch zur Gewinnung von Naphthalinsulfoserin aus Gemengen von Eiweißspaltungsprodukten unter Umständen sehr geeignet ist. So ließ sich aus den bei Säurespaltung von Seide und auch von Rinderhorn gewonnenen Zersetzungsflüssigkeiten nach Abscheidung der schwerer löslichen Aminosäuren durch fraktionierte Krystallisation ohne weiteres Serin als Naphthalinsulfoverbindung gewinnen. Über Versuche an weiteren Eiweißkörpern gedenken wir später zu berichten.

Ein Beitrag zur Kumagawa-Sutōschen Fettbestimmungsmethode.

Von

Yoshitaka Shimidzu.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 18. August 1910.)

In der Stoffwechsel- und Ernährungsphysiologie sind wir seit langer Zeit dahin übereingekommen, die Menge des Eiweißes aus dem Stickstoff und die des Kohlenhydrates aus der Reduktionswirkung zu bestimmen, weil die quantitative Isolierung der beiden Stoffe aus den tierischen Materialien in den meisten Fällen unmöglich ist. Diese indirekten Methoden sind zurzeit so weit vervollkommnet, daß dieselben uns für den meisten Zweck genügende Exaktheit gewähren. Nur die Methode der Fettbestimmung blieb in dieser Hinsicht im Vergleich zu den beiden vorhergehenden noch weit zurück. Die meisten Forscher, die sich in den letzten Dezennien mit der Ausarbeitung der Fettbestimmungsmethoden beschäftigt haben, strebten hauptsächlich danach, das Fett mittels geeigneter Extraktionsmittel aus dem Organpulver quantitativ zu gewinnen. Sie betrachteten hierbei diejenige Methode als die beste, die zum Schluß maximale Mengen Ätherextrakt ergibt. Auf die Natur des so gewonnenen Ätherextraktes ist indessen bis jetzt zu wenig Rücksicht genommen worden. Genaue vergleichende Untersuchungen von Kumagawa und Sutō[1]) hierüber führten in den Hauptzügen zu den folgenden Ergebnissen:

1. Die Resultate zahlreicher bisher angegebenen Fettbestimmungsmethoden stimmen untereinander nicht überein.

---

[1]) Diese Zeitschr. 8, 212, 1908.

2. Diejenige Methode, die zum Schluß größte Mengen an Ätherextrakt ergibt (Alkoholmethode), leidet daran, daß das gereinigte Ätherextrakt eine große Menge stickstoffhaltiger Beimengungen enthält.

3. Diejenige Methode, die relativ reineres Fett ergibt (Äther- resp. Petroläthermethode), leidet wiederum daran, daß die Extraktion des Fettes aus Organpulver noch bei weitem ungenügend ist.

Hiernach haben Kumagawa und Sutō die bisherigen Bestrebungen, die bezweckten, ein Extraktionsmittel aufzufinden, das Fett in reiner Form quantitativ aus dem Organpulver herauszuziehen, als unmöglich verlassen, und dafür eine neue indirekte Methode ausgearbeitet, wonach das tierische Material direkt mit starker Lauge verseift, und die hieraus isolierten hohen Fettsäuren (Petrolätherextrakt minus unverseifbare Substanzen) mit dem Faktor 1,046 multipliziert als Neutralfett in Rechnung gebracht werden. Abgesehen davon, daß die beiden Autoren alle Einzelheiten der neuen Methode in ihrer Originalschrift ausführlich begründet haben, hat neuerdings E. Bogdanow[1]) alle bisherigen Fettbestimmungsmethoden einer erneuten Kritik unterworfen. Derselbe betont hierbei ganz besonders die Brauchbarkeit der Kumagawa-Sutōschen Methode, wie aus einigen Bogdanowschen Schlußsätzen zu ersehen ist:

„1. Die gewöhnliche Fettbestimmung ‚nach Soxhlet‘ ist für die wissenschaftlichen Untersuchungen vollständig unzureichend . . . .

5. Vollständige Entfettung mancher Stoffe ist nur nach der Alkoholmethode möglich, deren Vorteil zuerst vom Verfasser gezeigt wurde.

6. Methoden von Dormeyer, Liebermann, Rosenfeld, Glikin und sogenannte meine vom Jahre 1897 haben in ihrer ursprünglichen Form jetzt nur historisches Interesse.

7. Sehr große Vorteile hat die Methode der Fettbestimmung nach Kumagawa-Sutō, die in der nächsten Zeit wahrscheinlich in den Vordergrund treten wird.

usw.“

Wenn auch hiernach, sowie aus dem Umstande, daß einige neu erschienene Werke biochemischer Analysen die Kumagawa-Sutōsche Methode als das zuverlässigste Verfahren[2])

[1]) In einer russisch abgefaßten Monographie „Über direkte und indirekte Fettbildung aus Eiweiß“, 1909.

[2]) Thierfelder, Hoppe-Seylers Handbuch d. chem. Analyse, 8. Aufl., S. 770, 1909. — Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Chemie, 7. Aufl., S. 2217, 1910.

empfehlen, es uns nunmehr unzweifelhaft erscheint, daß die Methode sehr bald eine allgemeine Anerkennung[1]) finden wird, so wissen wir zurzeit noch nicht, ob dieselbe für alle tierischen und pflanzlichen Materialien eine universale Anwendung bietet, weil sie bis jetzt nur an dem getrockneten Pulver von Fleisch (von Kumagawa und Sutō), von Faeces und einigen Getreidekörnern (von R. Inaba)[2]) geprüft worden ist.

Auch stehen die Fragen noch ganz offen, ob der Fettgehalt der frischen Substanzen und der daraus hergestellten Pulvermassen sich ändert. Man hat bis jetzt stillschweigend vorausgesetzt, daß der Fettgehalt des frischen wasserhaltigen Materials ganz unverändert bleibt, wenn man dasselbe nach dem Trocknen in Pulverform aufbewahrt. Sollte ein Teil des Fettes wegen seiner leicht oxydablen Eigenschaft beim Trocknen und Pulverisieren oder beim Aufbewahren zersetzt werden, so ist es selbstverständlich nicht gleichgültig, ob man den Fettgehalt in einem frischen Material oder in der getrockneten Pulvermasse feststellt. Handelt es sich hierbei um die Stoffwechselfrage, wobei man eine genaue Feststellung des Fettgehaltes der einzelnen Organe nötig hat, so würde man einen großen Fehler begehen, wenn man, wie üblich, den in einer getrockneten Pulverportion festgestellten Fettgehalt auf die ganze frische Masse umrechnet. Eine noch größere Bedeutung hat dieser Umstand für jeden Fütterungsversuch, weil man den Fettgehalt des Futters allgemein in Pulverform feststellt, während das Futter meist in roher Form dem Tiere gegeben wird. Solche fundamentale Fragen für die Sroffwechseluntersuchungen sind bis jetzt zu wenig berücksichtigt worden. Um diese Lücken auszufüllen, habe ich auf Anregung und unter Leitung von den Begründern der Methode nachstehende Untersuchungen ausgeführt.

---

[1]) Es ist mir in hohem Maße unverständlich, daß G. Rosenfeld, der in dem „Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden" von E. Abderhalden (1910) das Kapitel „Fettbestimmung in Organen" übernommen hat, von der Kumagawa-Sutōschen Methode (Diese Zeitschr. 8, 1908) nichts erwähnt und seine alte Alkohol-Chloroformmethode, deren Minderwertigkeit von Kumagawa und Sutō längst erwiesen worden ist, jetzt noch als einfachste Methode allgemein empfiehlt.

[2]) Diese Zeitschr. 8, 348, 1908.

Im folgenden, wo keine besonderen Bemerkungen hinzugefügt worden sind, habe ich die Fettbestimmung genau nach der Originalvorschrift ausgeführt. Die bei diesen Untersuchungen stets in den Vordergrund tretenden Reagenzien, wie Äthyläther, Äthylalkohol, Petroläther, Asbest, Watte und dergleichen wurden ebenfalls genau nach der Vorschrift gereinigt. Auch das sog. entfettete Filterpapier von Schleicher und Schüll wurde wie die Watte mit Natronlauge und Salzsäure vorbehandelt, weil dasselbe nach M. Kumagawa noch 0,063 % hohe Fettsäuren enthält.

Kapitel I.

Fragestellungen:

1. Ändert sich der Fettgehalt des wasserhaltigen Materials beim Trocknen nicht?

2. Wie kann man den Fettverlust beim Trocknen des wasserhaltigen Materials vermeiden?

3. Wie kann man Stoffe ohne Fettverlust aufbewahren?

Es war bis jetzt nicht möglich, die vorgelegten Fragen zu entscheiden, weil man keine Methode kannte, den Fettgehalt in einem frischen wasserhaltigen Material direkt festzustellen. Dank der neuen Methode von Kumagawa-Sutō sind wir nunmehr imstande, den Fettgehalt sowohl im frischen Material wie im getrockneten Zustande mit gleicher Genauigkeit zu bestimmen. Da die beiden Autoren diese Fragen noch nicht berücksichtigt und nur getrocknetes Fleischpulver untersucht haben, so erschien es mir zweckmäßig, vor allem diese fundamentalen Fragen hier eingehender zu betrachten, ehe ich zu den weiteren Untersuchungen schreite. Zu diesem Zwecke habe ich folgende Versuche angestellt.

Versuchsreihe A.

Material: Pferdefleisch I.

Etwa 600 g frischen Pferdefleisches wurden 3mal durch die Hackmaschine getrieben. Nach guter Durchmischung wurden folgende Proben ohne Verzug abgewogen:

6 Proben von je 10 g,
6 Proben von je 5 g,
1 Probe von 400 g.

Die letzte Probe (400 g Pferdefleischbrei I) wurde in einer Porzellanschale mit einer gleichen Menge Alkohol (95 %) übergossen und auf

dem Wasserbade eingedampft. Nach etwa 8 Stunden wurde die Masse so weit trocken, daß man sie bequem pulverisieren konnte. Um Verluste zu vermeiden, habe ich bei der Pulverisation den in der Schalenwand verklebten lipoidartigen Rest mit ein wenig heißem Alkohol aufgelöst und diesen mit dem zugesetzten Fleischpulver absaugen lassen. Dann wurde es von neuem getrocknet. Diese Manipulation wurde mehrmals wiederholt, bis sich an der Schale kein Fleck mehr erkennen ließ. Die Pulverisation wurde so weit getrieben, daß die ganze Masse durch ein Sieb mit 0,2 bis 0,3 qmm Maschenweite ging. Das so hergestellte lufttrockene Pulver wog im ganzen 120,5 g. Ohne Verzögerung wurden hiervon 10 Proben von genau je 2 g abgewogen. Ehe wir auf den Fettgehalt dieser Proben eingehen, betrachten wir zunächst den Fettgehalt des frischen Fleischbreies.

Versuch 1.

Fleischbrei. Direkte Verseifung.

Je 10 g Fleischbrei I wurden mit 17 ccm 30 g/dl-iger[1]) Natronlauge versetzt (die Gesamtmenge Wasser in der Probe beträgt hierdurch ungefähr 25 ccm und die Konzentration annähernd 20 g/dl NaOH), und im Dampfbade direkt verseift (auf dem Wasserbade mit Glasglocke bedeckt). Das weitere Verfahren erfolgte genau nach Kumagawa-Sutō. Die Ergebnisse der Bestimmungen sind:

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Cholesterin[2]) g	Hoch-molekulare Fettsäuren g	Hoch-molekulare Fettsäuren %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,4296	0,0130	0,4166	4,166	4,358
2	0,4300	0,0154	0,4146	4,146	4,337
3	0,4297	0,0130	0,4167	4,167	4,359
4	0,4285	0,0126	0,4159	4,159	4,350
5	0,4300	0,0126	0,4174	4,174	4,366
Summa	2,1478	0,0666	2,0812		
Mittel	0,4296	0,0133	0,4162	4,162	4,353

Demnach beträgt der Fettgehalt des frischen Fleischbreies bei dem Pferdefleisch I an hochmolekularen Fettsäuren 4,162 % und als Neutralfett 4,353 %.

Versuch 2.

Kombination der Alkoholextraktion mit Verseifung.

Je 5 g Fleischbrei I wurden mit 20 ccm Alkohol von 95 % übergossen, gut durchgemischt, nach einigen Stunden durch entfettetes Filterpapier abfiltriert und mehrmals mit Alkohol abs. ausgewaschen. Der Rückstand wurde in eine Papierhülse von entfettetem Filterpapier

---

[1]) 30 g NaOH mit Wasser zu 100 ccm aufgefüllt (dl = Deziliter).

[2]) Da die unverseifbaren Substanzen zum großen Teil in Cholesterin bestehen, so werden sie in dieser Abhandlung einfach als Cholesterin bezeichnet.

hineingebracht und 5 Stunden lang mit 100 ccm Alkohol abs. im Heiß extraktor (nach Kumagawa-Sutō)[1]) extrahiert. Die beiden alkoholischen Filtrate wurden zusammen mit 5 ccm 20 g/dl-iger Natronlauge verseift und nach der Verjagung des Alkohols nach Kumagawa-Sutō weiter behandelt.

Die Resultate sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Hoch-molekulare Fettsäuren g
1	0,2105	0,0065	0,2040
2	0,2079	0,0060	0,2019
3	0,2056	0,0050	0,2006
4	0,2068	0,0062	0,2006

Der Pulverrückstand in der Hülse wurde hierauf der direkten Verseifung unterworfen. Es verblieben darin Fettsäuren in ganz geringer Menge, wie folgt:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g
1	0,0012
2	0,0014
3	0,0024
4	0,0020

Addiert man diese Restfettsäuren unter Vernachlässigung der darin enthaltenden winzigen Menge Cholesterins zu der obigen Hauptmasse hinzu, so resultieren folgende Werte:

Probe Nr.	Fettsäure g	Restfett-säure g	Gesamt-fettsäure g	Gesamt-fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2040	0,0012	0,2052	4,104	4,293
2	0,2019	0,0014	0,2033	4,066	4,253
3	0,2006	0,0024	0,2030	4,060	4,247
4	0,2006	0,0020	0,2026	4,052	4,238
Summa	0,8071	0,0070	0,8141		
Mittel	0,2018	0,0018	0,2035	4,071	4,258

Demnach beträgt der Fettgehalt bei diesem Verfahren als Neutralfett im Mittel 4,258 %. Mit dem ersteren Verfahren verglichen ist der Unterschied äußerst gering (4,353 : 4,258 %).

[1]) Der Heißextraktor nach Kumagawa-Sutō funktionierte meist sehr glatt, wenn man Alkohol über 95 % verwendet. Nur einige Male habe ich starkes Stoßen beim Sieden erlebt. Diese unangenehme Erscheinung wird dadurch sicher beseitigt, daß man die innere Fläche des Bodens des Extraktorzylinders mit Fluorwasserstoff mäßig stark anätzt.

Versuch 3.

Verseifung des getrockneten Fleischpulvers.

Je 2 g des oben beschriebenen Pferdefleischpulvers I wurden nunmehr direkt verseift. Die Ergebnisse lauten wie folgt:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2546	0,0070	0,2476	12,380	12,949
2	0,2548	0,0078	0,2470	12,350	12,918
3	0,2530	0,0075	0,2455	12,275	12,840
4	0,2548	0,0080	0,2468	12,340	12,908
Summa	1,0172	0,0303	0,9869		
Mittel	0,2543	0,0076	0,2467	12,336	12,903

Hiernach enthält das Fleischpulver I im lufttrocknen Zustande 12,336 % Fettsäuren. Wie erwähnt, wurden aus 400 g Fleischbrei 120,5 g Trockenpulver in toto gewonnen. Demnach wurde der Fettgehalt in Fleischbrei umgerechnet ($12,336 \times \frac{120,5}{400,0} = 3,716$ %) im Werte von hochmolekularen Fettsäuren auf 3,716 % und als Neutralfett auf 3,887 % reduziert, gegenüber 4,353 % bei direkter Verseifung des Fleischbreies.

Versuch 4.

Alkoholextraktion des Fleischpulvers.

Je 2 g desselben Fleischpulvers werden 5 Stunden lang mit 100 ccm Alkohol abs. im Heißextraktor ausgezogen. Das alkoholische Filtrat wurde mit 5 ccm 20 g/dl-iger Natronlauge verseift und nach Kumagawa-Sutō weiter behandelt. Die Resultate sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g
1	0,2516	0,0074	0,2442
2	0,2518	0,0074	0,2444
3	0,2520	0,0078	0,2442
4	0,2525	0,0080	0,2445

Auch hier wurde das noch restierende Fett im Pulverrückstande mittels direkter Verseifung bestimmt. Die Menge der Restfettsäuren betrug

in Proben von 1 und 2 zusammen . . . 0,0042 g,
also für jede Probe . . . . 0,0031 g,
dieselbe in Proben von 3 und 4 zusammen 0,0030 g,
also für jede Probe . . . . 0,0015 g.

Hiernach haben wir folgende Werte erhalten:

Probe Nr.	Fettsäure g	Restfettsäure g	Gesamtfettsäure g	Gesamtfettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2442	0,0021	0,2463	12,315	12,881
2	0,2444	0,0021	0,2465	12,325	12,892
3	0,2442	0,0015	0,2457	12,285	12,850
4	0,2445	0,0015	0,2460	12,300	12,866
Summa	0,9773	0,0072	0,9845		
Mittel	0,2443	0,0018	0,2461	12,306	12,872

Hieraus berechnet sich der Fettgehalt des Fleisches ($12{,}306 \times \frac{120{,}5}{400{,}0} = 3{,}707\ \%$) im Werte von hochmolekularen Fettsäuren zu 3,707 % und als Neutralfett zu 3,878 %.

Die Resultate der Versuchsreihe A sind in folgender Tabelle veranschaulicht.

Versuch Nr.	Form des Materials	Methode der Bestimmung	Fettgehalt des Fleisches %	Relation zueinander	Verlust an Fett %
1	Fleischbrei	Direkte Verseifung	4,353	100,0	0
2	Fleischbrei	Alkohol-extrakt. Verseifung	4,258	97,9	2,1
3	Fleischpulver	Direkte Verseifung	3,887	89,3	10,7
4	Fleischpulver	Alkohol-extrakt. Verseifung	3,878	89,1	10,9

Wie aus der Tabelle ersichtlich, stimmen die Resultate der direkten Verseifung und die der Alkoholextraktion mit nachfolgender Verseifung sowohl für das frische Material wie für das getrocknete Pulver ziemlich gut überein. Dagegen differiert der Fettgehalt des frischen Fleischbreies mit demjenigen des getrockneten Pulvers ein und desselben Fleisches um über 10 %. Dieser große Verlust des Fettgehaltes bei anscheinend harmloser Voroperation ist sehr auffällig, weil wir den Fleischbrei durch Alkoholzusatz auf dem Wasserbade schonend eingetrocknet haben. Dies kann nicht anders erklärt werden, als daß das Fett des frischen, wasserhaltigen Fleischmaterials bei hoher Temperatur zum Teil durch den Luftsauerstoff zersetzt worden ist, während bei der direkten Verseifung mit überschüssigem Alkali die gespaltenen Fettsäuren in Form von Seifen völlig vor der Zersetzung geschützt sind.

Versuchsreihe B.

Weitere Untersuchungen über das Trocknen und Aufbewahren des Fleisches.

Die vorhergehenden Untersuchungen haben uns überraschenderweise gezeigt, daß der Fettgehalt des Fleisches, wenn es in großer Menge auf dem Wasserbade getrocknet wird, sehr stark abnahm. Um dieses Verhalten näher zu untersuchen, habe ich mit dem Pferdefleisch II eine weitere Reihe von Versuchen angestellt. Von genau ebenso hergestelltem Pferdefleischbrei II in Menge von 1 kg wurden folgende Proben abgewogen:

10 Proben von je 10 g,
3 Proben von je 100 g,
1 Probe von 300 g.

Versuch 2.

Pferdefleischbrei II. — Direkte Verseifung.

Je 10 g Pferdefleischbrei II wurden mit 17 ccm 30 g/dl-iger Natronlauge versetzt und direkt verseift. Die Ergebnisse der Bestimmungen sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2840	0,0128	0,2712	2,712	2,837
2	0,2842	0,0134	0,2708	2,708	2,833
Summa .	0,5682	0,0262	0,5420		
Mittel .	0,2841	0,0131	0,2710	2,710	2,835

Dieser Fettgehalt des Fleisches II wurde allen folgenden Versuchen als Standartwert zugrunde gelegt.

Versuch 2.

100 g Fleischbrei mit Alkohol getrocknet.

In den Versuchsreihen A habe ich zum Trocknen des Fleischbreis ziemlich lange Zeit gebraucht. Um die Trocknungsdauer möglichst abzukürzen, habe ich bei diesem Versuche anstatt 400 g nur 100 g Fleischbrei II mit 100 ccm 95 %igem Alkohol übergossen, gut durchgemischt und auf dem Wasserbade getrocknet. Die Dauer des Trocknens betrug 2 Stunden und 45 Minuten. Unter den gleichen Vorsichtsmaßregeln wie dort habe ich das getrocknete Fleisch pulverisiert. Das Pulver

wog in toto 27,37 g. Hiervon wurden 2 Proben von je 3 g abgewogen und jede Probe direkt verseift.

Die Resultate sind:

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,3086	0,0146	0,2940	9,800	10,251
2	0,3106	0,0150	0,2956	9,853	10,306
Summa .	0,6192	0,0296	0,5896		
Mittel .	0,3096	0,0148	0,2948	9,827	10,279

Aus 9,827 % Fettsäuren berechnet sich der Fettgehalt des Fleischbreis ($9{,}827 \times \frac{27{,}37}{100} = 2{,}690\,\%$) als Fettsäuren ausgedrückt zu 2,690 % und als Neutralfett zu 2,814 %. Dieses Mal betrug der Verlust nur noch 0,7 %. Demnach konnte man durch die Abkürzung des Trocknens den Fettverlust zum großen Teil aufheben.

Versuch 3.

Trocknen des Fleisches (100 g) ohne Alkoholzusatz.

Um das Trocknen zu erleichtern, habe ich bisher dem Fleischbrei immer Alkohol hinzugefügt. Um den Einfluß des Alkohols zu prüfen, habe ich hier einen Versuch ohne Alkoholzusatz angestellt.

100 g Fleischbrei II wurden auf dem Wasserbade ohne Alkoholzusatz getrocknet. Die Trocknungszeit erforderte dabei 3 Stunden und 45 Minuten und die Menge des Pulvers betrug 26,92 g. Hieraus wurden 2 Proben von je 3 g abgewogen und direkt verseift. Die Ausbeuten sind:

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,3128	0,0150	0,2978	9,927	10,384
2	0,3102	0,0144	0,2958	9,860	10,314
Summa .	0,6230	0,0294	0,5936		
Mittel .	0,3115	0,0147	0,2968	9,894	10,349

Demnach beträgt der Fettgehalt des Pulvers 9,894 % resp. 10,349 %. Auf Fleischbrei umgerechnet ($9{,}894 \times \frac{26{,}92}{100} = 2{,}663\,\%$), beträgt derselbe 2,663 % resp. 2,786 % (Neutralfett). Der Verlust stieg

jetzt auf 1,7 %, gegenüber 0,7 % bei Versuch 2. Dieser Unterschied beruht wohl auf der Differenz der Trocknungszeit. Demnach wirkt der Alkohol auf das Trocknen nicht nachteilig, sondern vielmehr insofern günstig ein, daß derselbe die Trocknungszeit bedeutend abkürzt und dementsprechend die Fettsäure gewissermaßen vor der Oxydation schützt.

Versuch 4.

Trocknen des Fleisches in kleinen Proben (10 g) ohne Alkoholzusatz.

Bei diesem Versuche habe ich 10 g Pferdefleischbrei II in einem Becherglas (Probe a) auf dem Wasserbade getrocknet, um die Trocknungszeit möglichst abzukürzen. Es erforderte 45 Minuten. Danach wurde die Probe ohne Pulverisation mit 25 ccm 5 fach Normalnatronlauge direkt verseift. Eine zweite Probe (Probe b) von ebenfalls 10 g Fleischbrei II wurde eine kurze Zeit auf dem Wasserbade gekocht (im Becherglas mit Uhrschale bedeckt), um sie zu sterilisieren, und erst am nächsten Tage auf dem Wasserbade getrocknet. Die Trocknungszeit betrug dabei eine Stunde. Dann wurde sie ebenfalls ohne Pulverisation verseift. Die Resultate sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
a)	0,2844	0,0138	0,2706	2,706	2,830
b)	0,2708	0,0140	0,2568	2,568	2,686

Die Ausbeute der Probe a stimmte mit derjenigen der direkten Verseifung des Fleischbreis II gut überein. Probe b zeigte dagegen eine Abnahme von etwa 5 %. Der Grund hiervon liegt entweder auf der sterilisierenden Abkochung oder in dem längeren Aufbewahren der Probe nach der Erwärmung, oder noch wahrscheinlicher auf der kombinierten Wirkung der beiden Momente.

Versuch 5.

Trocknen des Fleisches im Vakuum.

Nach den Resultaten der bisherigen Untersuchungen erschien es uns zweifellos, daß der Fettverlust des Fleisches bei dem Trocknen und Pulverisieren auf oxydativer Zersetzung beruht. Wäre die Vermutung richtig, so müßte sich das Fleisch im

Vakuum ohne Verlust an Fettsäure trocknen lassen. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch angestellt:

300 g Fleischbrei II wurden auf 3 Porzellanteller von etwa 17 cm Durchmesser in dünnen Schichten gleichmäßig verbreitet und in dem Vakuumtrockenapparat von T. Sasaki[1]) bei 50 ° C getrocknet. Es waren zum Trocknen 48 Stunden nötig. Das so gewonnene Pulver wog in toto 86,36 g. Hieraus wurden 3 Proben von je 3 g abgewogen. Zwei von ihnen wurden direkt verseift. Als Resultate ergaben sich:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2804	0,0130	0,2674	8,913	9,323
2	0,2810	0,0140	0,2670	8,900	9,309
Summa .	0,5614	0,0270	0,5344		
Mittel .	0,2807	0,0135	0,2672	8,907	9,317

Der Fettgehalt des Fleischbreies II

$$= 8{,}907 \times \frac{86{,}36}{300} = 2{,}564\,\% \text{ resp. } 6{,}682\,\% \text{ (Neutralfett).}$$

Gegen Erwartung betrug der Fettverlust hier 5,4 %. Dieser Widerspruch war jedoch nur ein scheinbarer. Da die Evakuierung bei diesem Apparat nur mittels der Wasserstrahlpumpe erfolgte, die den Druck im Minimum auf 12 mm Quecksilber herabsetzt, so hat der Restsauerstoff wegen langdauernder Erwärmung auf den Fleischbrei doch zersetzend eingewirkt. Wie weiter unten gezeigt wird, hat eine vollkommene Evakuierung keine Zersetzung des Fettes beim Trocknen zur Folge. Daß eine sehr langdauernde Erhitzung des Fleischbreies tatsächlich eine Zersetzung des Fettes in beträchtlichem Grade hervorruft, geht aus folgendem Versuche klar hervor.

Eine Probe von 3 g obigen Pulvers wurde 10 Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt. Die direkte Verseifung dieser Probe ergab folgendes Resultat:

Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %
0,2634	0,0130	0,2504	8,347

Der Fettgehalt des Fleisches II berechnet sich hieraus zu $8{,}347 \times \frac{86{,}36}{300}$ $= 2{,}403\,\%$ resp. $2{,}514\,\%$ (Neutralfett). Demnach hat das Pulver durch langes Erwärmen einen Verlust von 6,3 % erlitten $\left(100 - \frac{2{,}514 \times 100}{2{,}682} = 6{,}3\right)$.

[1]) Mitteilung aus der Medizinischen Fakultät der kaiserlichen Universität zu Tokio, 7, Heft 1, 1906.

Versuche über die Aufbewahrung.

Versuch 6.

Aufbewahrung des Materials in Alkohol.

Bisherige Untersuchungen haben uns gezeigt, daß der Fettgehalt eines Materials nur dann ganz richtig festgestellt werden kann, wenn man das frische wasserhaltige Material direkt nach Kumagawa-Sutōs Methode verseift. Für mancherlei Versuche ist es indessen sehr erwünscht, Methoden kennen zu lernen, die uns gestatten, Organe und Gewebe ohne Zersetzung beliebig lange Zeit aufbewahren zu können. Wie oben gezeigt, läßt sich der Fettverlust durch möglichst schnelles Trocknen mittels Alkohols auf ein Minimum reduzieren. Es wäre deshalb wohl möglich, daß das frische Fleisch sich ohne Zersetzung in Alkohol aufbewahren läßt. Um dies festzustellen, habe ich folgende Versuche nebeneinander angestellt.

Versuch a. 100 g Fleischbrei II wurden mit 100 ccm 95%igen Alkohols übergossen und 23 Tage im Becherglas mit Glasdeckel bedeckt aufbewahrt. Hierauf wurden sie auf dem Wasserbade getrocknet und dann pulverisiert. Die Menge des Pulvers betrug 27,35 g. Hiervon wurden 2 Proben von je 3 g Pulver abgewogen. Die Ergebnisse der direkten Verseifung sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,3070	0,0142	0,2928	9,760	10,209
2	0,3070	0,0150	0,2920	9,733	10,181
Summa .	0,6140	0,0292	0,5848		
Mittel . .	0,3070	0,0246	0,2924	9,747	10,195

Der Fettgehalt des Fleisches II berechnet sich hieraus zu $9,747 \times \frac{24,35}{100} = 2,666\%$ resp. 2,789% (Neutralfett).

Versuch b. 2 Proben von je 10 g Fleischbrei II wurden mit je 50 ccm 95%igen Alkohols übergossen und in Bechergläsern mit Glasschalen bedeckt aufbewahrt. Nach 2 Wochen wurden sie auf dem Wasserbade getrocknet und direkt verseift. Die Ausbeuten sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2732	0,0132	0,2600	2,600	2,720
2	0,2760	0,0136	0,2624	2,624	2,745
Summa .	0,5492	0,0268	0,5224		
Mittel . .	0,2746	0,0134	0,2612	2,612	2,732

Die Ausbeute des Versuchs a ist etwa 1,6 % weniger, die des Versuchs b etwa 3,6 % weniger als die bei der direkten Verseifung frischen Fleischbreies II. Diese Versuche haben uns keine befriedigende Resultate ergeben. Was daran schuld war, läßt sich nicht leicht eruieren. Möglicherweise hat das Trocknen hier etwas zu lange gedauert.

Versuch 7.

Aufbewahrung des Materials im Vakuumexsiccator mit Chlorcalcium.

2 Proben von je 10 g Fleischbrei II wurden im Exsiccator mit Chlorcalcium bei Zimmertemperatur mittels der Wasserstrahlpumpe getrocknet. Nach einigen Stunden veränderten sie sich zu mürberen, dünnen Lamellen. Dieselben wurden nun 2 Wochen lang im Exsiccator weiter aufbewahrt, indem ich täglich einmal evakuierte. Direkte Verseifung der beiden Proben ergab folgende Ausbeuten:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2818	0,0136	0,2682	2,682	2,805
2	0,2824	0,0140	0,2684	2,684	2,807
Summa .	0,5642	0,0276	0,5366		
Mittel . .	0,2821	0,0138	0,2683	2,683	2,806

Die Abnahme der Fettsäure zeigt noch 1 %.

Versuch 8.

Direkte Aufbewahrung des Materials in Verseifungslauge.

Eine Probe von 10 g Fleischbrei II wurde mit 17 ccm 30 g/dl-iger Natronlauge versetzt und einfach im Zimmer aufbewahrt. Nach 23 Tagen wurde die Probe im Dampfbade verseift. Die Bestimmung ergab folgendes Resultat:

Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
0,2846	0,0132	0,2714	2,714	2,839

Wie zu erwarten, hat diese Probe keine Spur Zersetzung erlitten. Die rationellste Methode der Aufbewahrung

ist hiernach das einfache Hineinlegen der einzelnen Proben in die Verseifungslauge.

Anhang zum Trocknen im Vakuum.

Wie in dem Versuch 5 erwähnt, wirkte der von Sasaki empfohlene Apparat für unseren Zweck nicht genügend evakuierend. Deshalb beabsichtigte ich, mittels der Quecksilberluftpumpe einen Versuch anzustellen. Leider ging hierzu das vorrätige Material schon aus. Daher habe ich neuen Pferdefleischbrei III als Versuchsmaterial genommen, der bei direkter Verseifung von je 10 g im frischen Zustande folgendes Resultat ergab:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2240	0,0104	0,2136	2,136	2,234
2	0,2230	0,0100	0,2130	2,130	2,228
Summa .	0,4470	0,0204	0,4266		
Mittel . .	0,2235	0,0102	0,2133	2,133	2,231

Mit diesem Fleischbrei wurde folgender Versuch ausgeführt: 2 Proben von je 10 g Fleischbrei III wurden nach der Angabe von Argutinsky[1]) im Vakuum über konz. H_2SO_4 mittels der automatischen Quecksilberluftpumpe von Raps getrocknet. Nach 1 Stunde ist der ausgebreitete Fleischbrei auf Drahtnetzen zu dünnen, porösen Lamellen hellroter Farbe umgewandelt. Jede Probe wurde zerkleinert und mit je 25 ccm 20 g/dl NaOH direkt verseift. Die Resultate sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2246	0,0108	0,2138	2,138	2,236
2	0,2236	0,0102	0,2134	2,134	2,232
Summa .	0,4482	0,0210	0,4272		
Mittel . .	0,2241	0,0105	0,2136	2,136	2,234

Dieser Versuch zeigt demnach, daß die Evakuation ganz glatt zum Ziele führt.

[1]) Pflügers Archiv 55, 345.

Tabellarische Übersicht der Versuchsreihen A und B.

Versuchs-Nr.	Art und Weise der Bestimmung	Fettgehalt des Fleisches %	Relation zueinander	Verlust an Fett %
	Reihe A:			
1	Fleischbrei I, direkt verseift	4,353	100,0	0
2	Fleischbrei I, Alkoholextraktion und darauf Verseifung	4,258	97,9	2,1
3	Fleischpulver I, direkt verseift	3,887	89,3	10,7
4	Fleischpulver I, Alkoholextraktion und darauf Verseifung	3,878	89,1	10,9
	Reihe B:			
1	Fleischbrei II, direkt verseift	2,835	100,0	0
2	100 g Brei II, mit Alkohol getrocknet ($2^3/_4$ Std.), pulverisiert, dann verseift	2,814	99,3	0,7
3	100 g Brei II, ohne Alkohol getrocknet ($3^3/_4$ Std.), pulverisiert, dann verseift	2,786	98,3	1,7
4a	10 g Brei II, ohne Alkohol getrocknet (45 Min.), dann verseift	2,830	99,8	0,2
4b	Derselbe, gekocht, nach 1 Tag getrocknet (1 Std.), dann verseift	2,686	94,7	5,3
5	300 g Brei II, nach Sasaki getrocknet (48 Std.), dann verseift	2,682	94,6	5,4
	Derselbe, Pulver, 10 Std. gekocht, dann verseift	2,514	88,7	11,3
6a	100 g Brei II, in Alkohol aufbewahrt, nach 23 Tagen getrocknet, gepulvert, dann verseift	2,789	98,4	1,6
6b	10 g Brei II, in Alkohol aufbewahrt, nach 14 Tagen getrocknet, gepulvert, dann verseift	2,732	96,4	3,6
7	10 g Brei II, im Exsiccator aufbewahrt, nach 14 Tagen verseift	2,806	99,0	1,0
8	10 g Brei II, in NaOH aufbewahrt, nach 23 Tagen verseift	2,839	100,1	0
	Anhang:			
1	10 g Brei III, direkt verseift	2,231	100,0	0
2	10 g Brei III, im Vakuum getrocknet (1 Std.), dann verseift	2,234	100,1	0

Hauptergebnisse zum Kapitel I.

Die Kumagawa-Sutōsche Fettbestimmungsmethode eignet sich für den frischen Fleischbrei ebenso gut wie für das Fleischpulver. Die Resultate der direkten Verseifung des Fleischbreies

stimmen miteinander genau überein, ein Resultat, wie es Kumagawa und Sutō vom Fleischpulver in gleicher Weise erlangt haben. Was die Ausbeute an Fett betrifft, so ist dieselbe aus dem Fleischbrei selber stets größer als diejenige aus dem getrockneten Pulver, das von ein und demselben Fleischbrei bereitet wurde. Die Differenz hängt wesentlich von der Zeitdauer des Trocknens bei hoher Temperatur ab. Wenn der Fleichbrei in größerer Menge auf einmal getrocknet und dementsprechend hierzu längere Zeit gebraucht wird, so kann die Differenz über 10% steigen. Wenn er dagegen in kleiner Menge schnell getrocknet wird, so ist die Abnahme an Fettsäuren nur unbedeutend. Für das Trocknen wirkt der Alkoholzusatz zum Fleischbrei insofern günstig ein, als derselbe die Zeitdauer abkürzt. Die Ursache der Abnahme der Fettsäuren beim Trocknen ist zweifellos auf eine Oxydation des Fettes zurückzuführen, denn, wenn der Fleischbrei im Vakuum getrocknet wird, so zeigt der Fettgehalt keine Abnahme. Je länger das Fleisch dagegen an der Luft erwärmt wird, desto größer ist die Abnahme an Fett.

Die beste und einwandfreieste Methode der Fettbestimmung des Fleisches ist demnach die direkte Verseifung desselben im frischen Zustande nach Kumagawa-Sutō. Will man aber das Fleisch aus bestimmten Gründen in Pulverform behandeln, so kann man dasselbe durch Evakuation mittels der Quecksilberluftpumpe ohne Verlust trocknen. Im Falle, wo man den Apparat nicht zur Verfügung hat, empfiehlt es sich, den Fleischbrei in kleiner Menge mit dem gleichen Teile Alkohol (95%) auf dem Wasserbade möglichst schnell zu trocknen. Arbeitet man hierbei ganz vorsichtig, so läßt sich das Fleisch fast ohne Fettverlust in Pulverform erhalten.

Was die Aufbewahrung anbelangt, so ist die beste Methode das einfache Hineinlegen der einzelnen Proben frischen Materials in die für die Verseifung nötige Menge Natronlauge. Ob und wie das Material in Pulverform sich beliebig lange ohne Fettverlust aufbewahren läßt, darüber habe ich keinen Versuch angestellt.

Kapitel II.

Fettbestimmungen anderer Organe.

Die vorhergehende Versuchsreihe hat uns gezeigt, daß der Fettgehalt des Fleisches für wissenschaftliche Untersuchungen

durch direkte Verseifung des wasserhaltigen Materials allein einen richtigen Wert liefert. Wie es uns von vornherein klar erschien, daß dieser Befund auch bei anderen Organen nicht anders sein kann, so habe ich doch dieses Verhalten auch an Herz, Leber, Niere und Blut geprüft. Wie wir gleich sehen werden, erforderte nur das Blut zur richtigen Feststellung seines Fettgehaltes ein etwas modifiziertes Verfahren.

I. Fettbestimmung des Herzmuskels.

Das sorgfältig präparierte Pferdeherz wurde zu Brei zerhackt und gut durchgemischt. Hiervon wurden folgende Proben abgewogen:

8 Proben von je 5 g,
1 Probe von 100 g.

Versuch 1.

Muskelbrei — Direkte Verseifung.

5 g Herzmuskelbrei wurden mit 17 ccm 30 g/dl-iger NaOH direkt verseift. Die Ergebnisse sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,1253	0,0184	0,1069	2,138	2,236
2	0,1260	0,0180	0,1080	2,160	2,259
3	0,1256	0,0178	0,1078	2,156	2,255
Summa .	0,3769	0,0542	0,3227		
Mittel .	0,1256	0,0181	0,1076	2,151	2,250

Die Operation selber geht ganz glatt, und der Petrolätherextrakt ist fast farblos wie bei Skelettmuskel.

Versuch 2.

Verseifung nach zweimaligem Auskochen des Herzmuskelbreies mit Alkohol.

Drei Proben von je 5 g wurden in Bechergläsern mit je 20 ccm Alkohol übergossen, auf dem Wasserbade eingedampft, dann wieder mit Alkohol übergossen und wieder eingedampft. Hierauf wurden sie mit NaOH direkt verseift. Die Resultate sind wie folgt:

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,1205	0,0163	0,1042	2,084	2,180
2	0,1208	0,0170	0,1038	2,076	2,171
3	0,1202	0,0170	0,1032	2,064	2,159
Summa .	0,3615	0,0503	0,3112		
Mittel .	0,1205	0,0168	0,1037	2,075	2,170

Versuch 3.

Verseifung in Pulverform.

100 g Pferdeherzmuskelbrei wurden mit gleichen Teilen Alkohol (95 %) übergossen, auf dem Wasserbade eingedampft und pulverisiert. Die Pulvermenge betrug 23,83 g. Hiervon wurden 4 Proben von je 3 g abgewogen.

Die Resultate der Verseifung sind:

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,3118	0,0426	0,2692	8,973	9,386
2	0,3120	0,0430	0,2690	8,967	9,379
3	0,3154	0,0450	0,2704	9,013	9,428
Summa .	0,9392	0,1306	0,8086		
Mittel .	0,3131	0,0435	0,2695	8,984	9,397

Rechnet man den Fettsäuregehalt des Pulvers in den des Breies um, so beträgt derselbe:

$$8,984 \times \frac{23,83}{100} = 2,141\ \%,\ \text{resp. } 2,239\ \%\ \text{(Neutralfett).}$$

Tabellarische Übersicht des Herzmuskelfettes.

Versuchs-Nr.	Art und Weise der Bestimmung	Fettgehalt des Fleisches %	Relation zueinander	Verlust an Fett %
1	Brei, direkt verseift	2,250	100,0	0
2	Brei, 2 mal mit Alkohol gekocht, dann verseift	2,170	96,4	3,6
3	in Pulverform verseift	2,239	99,5	0,5

Die Kumagawa-Sutōsche Methode läßt das Herzmuskelfett im frischen Material ebenso einfach und glatt bestimmen wie

Skelettmuskelfett. Auch hier sehen wir, daß der Fettgehalt durch mehrmaliges Kochen stark herabgesetzt wird, dieser Abnahme jedoch durch möglichst schnelles Trocknen fast vollständig vorgebeugt werden kann, wie bei den vorhergehenden Versuchen.

II. Fettbestimmung der Leber.

Etwa 400 g Pferdeleber wurden durch die Hackmaschine getrieben. Hiervon wurden folgende Proben abgewogen:

1 Probe von 100 g,
7 Proben von je 10 g.

Versuch 1.

Leberbrei — Direkte Verseifung.

10 g Pferdeleberbrei wurden mit 17 ccm 30 g/dl-iger NaOH direkt verseift. Die Petrolätherextrakte aus den Ätherextrakten waren hierbei schwach bräunlich gefärbt. Sonst ging die Operation ganz glatt. Um die Natur dieses Farbstoffes zu erkennen, habe ich spektroskopisch auf Lipochrom, nach Lasseigne auf Stickstoff mit negativen Resultaten geprüft. Nur die Urochromreaktion fiel ganz schwach positiv aus. Welcher Farbstoff es auch sein mag, jedenfalls hat derselbe wegen minimaler Mengen keinen Einfluß auf das Resultat der Fettbestimmung.

Die Ergebnisse der Bestimmungen sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,4712	0,0400	0,4312	4,312	4,510
2	0,4718	0,0410	0,4308	4,308	4,506
3	0,4682	0,0396	0,4286	4,286	4,483
4	0,4684	0,0408	0,4276	4,276	4,473
Summa .	1,8796	0,1614	1,7182		
Mittel .	0,4699	0,0404	0,4296	4,296	4,494

Die einzelnen Resultate stimmen miteinander gut überein.

Versuch 2.

Heißextraktion des Leberbreies mit Alkohol. Verseifung des Alkohols und des Rückstandes.

Die Ausbeuten aus dem Alkoholextrakte in 10 g Leberbrei sind:

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g
1	0,4478	0,0176	0,4302
2	0,4488	0,0182	0,4306

Die Petrolätherextrakte waren ganz schwach gelb-bräunlich gefärbt. Die Restfettsäuren aus den beiden Heißextraktionsrückständen betrugen 0,0038 g. Demnach beträgt der Fettgehalt jeder Probe:

Probe Nr.	Fettsäure g	Restfettsäure g	Gesamtfettsäure g	Gesamtfettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,4302	0,0019	0,4321	4,321	4,520
2	0,4306	0,0019	0,4325	4,325	4,524
Summa .	0,8608	0,0038	0,8646		
Mittel .	0,4304	0,0019	0,4323	4,323	4,522

Versuch 3.

Verseifung des Leberpulvers.

100 g Pferdeleberbrei wurden mit gleichen Teilen Alkohol auf dem Wasserbade schnell getrocknet. Hiervon wurden 31,70 g Pulver gewonnen. Je 2 g davon wurden direkt verseift. Die Ergebnisse sind:

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2958	0,0252	0,2706	13,53	14,15
2	0,2950	0,0252	0,2698	13,49	14,11
3	0,2896	0,0250	0,2646	13,23	13,84
4	0,2964	0,0256	0,2708	13,54	14,16
5	0,2960	0,0252	0,2708	13,54	14,16
6	0,2960	0,0250	0,2710	13,55	14,17
Summa .	1,7688	0,1512	1,6176		
Mittel .	0,2948	0,0252	0,2696	13,48	14,10

Die Petrolätherextrakte waren schwach bräunlich gefärbt.

Der Fettsäuregehalt des frischen Leberbreies berechnet sich zu

$$13{,}40 \times \frac{31{,}7}{100} = 4{,}273\ \%,\ \text{resp. } 4{,}470\ \%\ \text{(Neutralfett).}$$

Tabellarische Übersicht des Leberfettes.

Versuchs-Nr.	Art und Weise der Bestimmung	Fettgehalt des Fleisches %	Relation zueinander	Verlust an Fett %
1	Brei, direkt verseift	4,494	100,0	0
2	Brei, mit Alkohol extrah., dann verseift	4,522	100,6	+ 0,6
3	in Pulverform verseift	4,470	99,5	0,5

Wie man sieht, ergibt die Kumagawa-Sutōsche Methode für die Leber ein gleiches Resultat.

III. Fettbestimmung der Niere.

Zwei frische Pferdenieren wurden von ihrer Kapsel befreit und zusammen zu Brei verarbeitet. Hiervon wurden

4 Proben von je 10 g,

1 Probe von 100 g

abgewogen.

Versuch 1.

Nierenbrei — Direkte Verseifung.

Je 10 g Pferdenierenbrei wurden mit 17 ccm 30 g/dl-iger NaOH direkt verseift. Die Petrolätherextrakte waren schwach bräunlich gefärbt. Die Natur des Farbstoffes wurde hier nicht untersucht.

Die Ergebnisse der Bestimmungen sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,1998	0,0356	0,1642	1,642	1,718
2	0,1978	0,0350	0,1628	1,628	1,703
3	0,2000	0,0366	0,1634	1,634	1,709
Summa .	0,5976	0,1072	0,4904		
Mittel .	0,1992	0,0357	0,1635	1,635	1,710

Versuch 2.

Nierenpulver-Verseifung.

Durch Trocknen mit Alkohol wurden von 100 g Pferdenierenbrei 21,09 g Pulver gewonnen. Je 4 g dieses Pulvers wurden mit 17 ccm 30 g/dl-iger NaOH verseift. Bei der Aufnahme der Fettsäuren in Äther im Scheidetrichter ging die

Trennung der beiden Schichten nicht ganz glatt und das Abgießen der oberen Ätherportion wurde dadurch erschwert, daß die aus feinen Flocken bestehende Zwischenschicht selbst bei leisestem Umschwenken sich im Äther ausbreitete. Diese Erscheinung wurde auch bei der Verseifung des Nierenbreies beobachtet, aber in viel geringerem Grade als beim Nierenpulver. Die Resultate der Bestimmungen sind:

Probe-Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,3848	0,0808	0,3040	7,609	7,950
2	0,3748	0,0742	0,3006	7,515	7,861
3	0,3704	0,0700	0,3004	7,510	7,855
Summa .	1,1300	0,2250	0,9050		
Mittel .	0,3767	0,0750	0,3017	7,542	7,889

Der Fettgehalt des frischen Nierenbreies berechnet sich zu

$$7{,}542 \times \frac{21{,}09}{100} = 1{,}591\ \%,\ \text{resp.}\ 1{,}664\ \%\ \text{(Neutralfett)}.$$

Tabellarische Übersicht des Nierenfettes.

Versuchs-Nr.	Art und Weise der Bestimmung	Fettgehalt des Fleisches %	Relation zueinander	Verlust des Fettes %
1	Brei, direkt verseift	1,710	100,0	0
2	Pulver, verseift	1,661	97,1	2,9

Die direkte Verseifungsmethode ist für Nierenfett ebenfalls anwendbar. Das Pulver gab etwas weniger gute Ausbeute als der frische Brei.

IV. Fettbestimmung des Blutes.

Es war zu vermuten, daß sich die tierischen Flüssigkeiten ebenso leicht und exakt, wie die tierischen Organe, nach der Kumagawa-Sutōschen Methode auf ihren Fettgehalt bestimmen lassen würden. Als ich mit dieser vorgefaßten Meinung das Blut in Angriff nahm, habe ich ganz unerwartete Schwierigkeiten getroffen, die sich ohne Modifikation der Methode nicht überwinden ließen. Bei den folgenden Blutuntersuchungen war noch der Umstand erschwerend, daß ich bei ein und demselben Blut eine große Reihe von Untersuchungen nicht durchführen konnte, weil man keine Garantie dafür hat, daß das Blut

während einer langen Periode ohne Veränderung bleibt. Aus diesen Gründen habe ich bei den folgenden Blutuntersuchungen in jeder Serie das defibrinierte Blut nach guter Durchmischung, sowie Plasma und Serum ohne Verzug in mehreren Proben genau abpipettiert. Eine Reihe davon wurde mit Alkohol, eine andere Reihe mit Verseifungslauge übergossen, gut gemischt und im Eisschrank aufbewahrt, damit alle Proben für die weiteren Fettbestimmungen vor jeder Veränderung geschützt bleiben. Zu verschiedenen Serien gehörige Blutarten sind unten mit römischen Nummern bezeichnet.

Versuchsreihe I.

Direkte Verseifung defibrinierten Blutes.

25 ccm defibrinierten Pferdeblutes I wurden durch Zusatz von 5 g NaOH 2 Stunden lang verseift. Bei der Extraktion der Fettsäure war die Trennung der ätherischen und wässerigen Schicht der angesäuerten Flüssigkeit sehr schlecht. Selbst nach 20 stündigem Stehenlassen blieb die Zwischenschicht in einem dicken emulsionsartigen Zustande. Das Blut löst sich beim Kochen mit starkem Alkali zwar vollständig auf; aber bei der Überneutralisation mit HCl scheiden sich tief dunkelbraun gefärbte feine Körner in reichlicher Menge aus, deren Hauptanteile wohl aus Hämatin zu bestehen scheinen. Diese Körnerschicht beeinträchtigt nämlich die glatte Trennung der beiden Schichten in erheblichem Grade.

Die durch mühsame und doch noch mangelhafte Trennung erhaltenen Ausbeuten betrugen:

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Petrolätherextrakt g/dl
1	0,0454	0,1816
2	0,0436	0,1744
Summa	0,0890	
Mittel	0,0445	0,1780

Der Petrolätherextrakt war fast farblos.

Die Ursache dieser schlechten Trennung könnte eine noch ungenügende Einwirkung des Alkalis auf das Blut sein. Aus dieser Vermutung heraus wurden 25 ccm desselben Blutes mit der doppelten Menge NaOH (10 g) verseift. Hierbei war die Trennung allerdings etwas besser, aber bei weitem noch ungenügend. Die Ausbeuten nahmen hier jedoch schon beträchtlich zu, wie folgt:

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Petrolätherextrakt g/dl
1	0.0533	0,2132
2	0,0552	0,2208
Summa	0,1085	
Mittel	0,0543	0,2170

Der Petrolätherextrakt war fast farblos.

Um die glatte Trennung zu erzielen, habe ich weitere vergebliche Versuche nach verschiedenen Richtungen hin unternommen. Einmal habe ich die Menge von NaOH für eine Probe auf 15 g vermehrt. Alsdann habe ich NaOH durch KOH ersetzt. Ferner wurde die Kochdauer auf 3 bis 4 Stunden verlängert. Endlich wurde die angesäuerte Flüssigkeit vor dem Schütteln mit Äther durch Kochsalz gesättigt. Die letzte Modifikation erleichterte die Trennung allerdings. Immerhin konnte der emulsionsartige Zustand der Zwischenschicht nicht glatt aufgelöst werden, so daß hierdurch die Erhaltung richtiger Ausbeuten sehr fraglich erschien.

Versuchsreihe II

Vergleichende Untersuchungen der Alkoholextraktion mit direkter Verseifung für defibriniertes Blut.

Versuch 1.

Defibriniertes Blut — Kombinierte Alkoholextraktion.

Unter kombinierter Alkoholextraktion wird folgende Methode verstanden. Blut mit kaltem Alkohol (95 $^0/_0$) versetzt und nach einiger Zeit abgenutscht. Der Rückstand wird im Heißextraktor mit absol. Alkohol kochend extrahiert. Die vereinigten Alkoholfiltrate werden verseift, verdunstet, in wenig heißem Wasser aufgelöst und weiter nach Kumagawa-Sutō behandelt. Im Rückstande des Blutes verblieben die Restfettsäuren in ganz minimaler Menge, daher wurden sie in den meisten Fällen ganz vernachlässigt.

10 ccm defibrinierten Pferdeblutes II wurden mit der vierfachen Menge Alkohol (95 $^0/_0$) versetzt und genau wie beschrieben behandelt. Die Ergebnisse sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
1	0,0401	0,0122	0,0279	0,279	0,292
2	0,0406	0,0144	0,0262	0,262	0,273
Summa .	0,0807	0,0266	0,0541		
Mittel .	0,0404	0,0133	0,0271	0,271	0,283

Versuch 2.

Defibriniertes Blut — Direkte Verseifung.

10 g defibriniertes Pferdeblut II wurden mit 2 g NaOH direkt verseift. Die Trennung der Äther- und Wasserschicht im Scheidetrichter wurde, wenn auch mangelhaft, durch Sättigung der letzteren mit NaCl erzielt. Die Bestimmungen ergaben folgende Resultate:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
1	0,0220	0,0075	0,0145	0,145	0,152
2	0,0250	0,0083	0,0167	0,167	0,175
Summa .	0,0470	0,0158	0,0312		
Mittel .	0,0235	0,0079	0,0156	0,156	0,163

Während die Alkoholextraktion 0,283 g/dl Fettgehalt ergab, erhielt ich bei der direkten Verseifung nur 0,163 g/dl, also nur etwa die Hälfte der Alkoholextraktion. Die Ursache dieses großen Unterschiedes ist zum Teil unklar, obwohl mir die schlechte Trennung zweifellos ein Hauptgrund davon zu sein scheint.

Versuchsreihe III.

Vergleichende Fettbestimmungen von Blutpulver, Blutserum, Blutplasma und defibriniertem Blut.

In folgenden 5 Versuchen wurden alle Fettbestimmungen an ein und demselben Blute ausgeführt, das von einem Pferde durch Herzstich gewonnen wurde.

Versuch 1.

Blutpulver — Heißextraktion.

Bei den Stoffwechselversuchen wird das Fett des Blutes im allgemeinen aus dem getrockneten Blutpulver bestimmt. Deshalb wurde eine Bestimmung an Pulver probiert.

498 g Pferdeblut III (478 ccm) wurden mit 500 ccm Alkohol (95 $^{0}/_{0}$) gemischt. Nach dem Abgießen der flüssigen

Schicht wurde der Bodensatz noch einmal mit der gleichen Menge Alkohol übergossen und stehen gelassen. Die obere flüssige Schicht wurde wieder abgegossen. Nach dem Abdampfen der vereinigten alkoholischen Flüssigkeiten wurde der Rückstand in die Schale zu dem Blutrückstand gebracht und getrocknet. Das Pulverisieren habe ich so weit getrieben, daß die ganze Masse durch ein Sieb von 0,2 bis 0,3 qmm ging. Das Pulver wog in toto 104,3 g. Durch 5stündige Heißextraktion genau gewogener Einzelproben mit Alkohol abs. und durch darauffolgende Verseifung des Alkoholextraktes wurden folgende Resultate gewonnen:

Probe Nr.	Pulvermenge g	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	5,2068	0,0536	0,0206	0,0330	0,634	0,663
2	5,1520	0,0524	0,0202	0,0322	0,625	0,654
3	5,4962	0,0570	0,0218	0,0352	0,640	0,669
4	5,9386	0,0606	0,0233	0,0373	0,628	0,657
Summa .	21,7936	0,2236	0,0859	0,1377		
Mittel .	5,4484	0,0559	0,0215	0,0344	0,632	0,661

Hiernach berechnet sich der Fettsäuregehalt des Blutes III zu

$$0{,}632 \times \frac{104{,}3}{498} = 0{,}132\,\%, \text{ oder}$$

$$0{,}632 \times \frac{104{,}3}{478} = 0{,}138 \text{ g/dl, resp. } 0{,}144 \text{ g/dl (Neutralfett).}$$

Versuch 2.

Blutserum — Direkte Verseifung,

Die direkte Verseifungsmethode ist für Blutserum ganz glatt ausführbar. Die Trennung der beiden Schichten im Scheidetrichter geht auch glatt von statten. Die Ausbeute von je 20 ccm Pferdeblutserum III, die durch 4 g NaOH verseift werden, sind wie folgt:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
1	0,0440	0,0130	0,0310	0,155	0,162
2	0,0434	0,0130	0,0304	0,152	0,159
Summa .	0,0874	0,0260	0,0614		
Mittel .	0,0437	0,0130	0,0307	0,154	0,161

Versuch 3.

Blutplasma — Direkte Verseifung.

Je 20 ccm Pferdeblutplasma III werden mit 4 g NaOH direkt verseift. Es werden folgende Resultate erhalten;

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
1	0,0467	0,0134	0,0333	0,167	0,175
2	0,0460	0,0130	0,0330	0,165	0,173
Summa .	0,0927	0,0264	0,0663		
Mittel .	0,0464	0,0132	0,0332	0,166	0,174

Die Verseifung und Extraktion geschah so glatt wie beim Serum.

Versuch 4.

Defibriniertes Blut — Kombinierte Alkoholextraktion.

Je 10 g defibrinierten Pferdeblutes III wurden nach dem oben beschriebenem Verfahren behandelt. Die Resultate der Bestimmungen sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
1	0,0366	0,0104	0,0262	0,262	0,274
2	0,0340	0,0096	0,0244	0,244	0,255
3	0,0314	0,0070	0,0244	0,244	0,255
Summa .	0,1020	0,0270	0,0750		
Mittel .	0,0340	0,0090	0,0250	0,250	0,262

Das Restfett in 3 Heißextraktionsrückständen wog zusammen nur 0,4 mg.

Während Blutpulver, Blutserum und Blutplasma den Fettgehalt von 0,144 resp. 0,161 resp. 0,174 g/dl zeigten, hat das defibrinierte Blut einen bedeutend höheren Fettgehalt von 0,262 g/dl.

Hier füge ich noch den Wert der direkten Verseifung bei demselben defibrinierten Blute hinzu.

Versuch 5.

Defibriniertes Blut — Direkte Verseifung.

Je 10 ccm defibrinierten Pferdeblutes III wurden durch 2 g NaOH verseift. Die Trennung geschah durch Sättigung der wässerigen Schicht mit NaCl.

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
1	0,0180	0,0060	0,0120	0,120	0,126
2	0,0164	0,0052	0,0112	0,112	0,117
Summa .	0,0344	0,0112	0,0232		
Mittel .	0,0172	0,0056	0,0116	0,116	0,121

Tabellarische Übersicht der Versuchsreihe III.

Art und Menge des Materials	Art der Bestimmungsmethode	Petrolätherextrakt g	Fettsäure g	Fettsäure g/dl	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) g/dl
Pulver 5,4484 g	Heißextraktion	0,0559	0,0344	0,138	0,144
Serum 20 ccm	Direkte Verseifung	0,0437	0,0307	0,154	0,161
Plasma 20 ccm	Direkte Verseifung	0,0464	0,0332	0,166	0,174
Def. Blut 10 ccm	Kombinierte Alkoholextraktion	0,0340	0,0250	0,250	0,262
Def. Blut 10 ccm	Direkte Verseifung	0,0172	0,0116	0,116	0,121

Der Fett- und Fettsäuregehalt des Pulvers wurde auf das frische Blut umgerechnet.

Demnach ist die Ausbeute aus dem defibrinierten Blute durch kombinierte Alkoholextraktion auffallend groß, während die übrigen weit geringer sind, und diese untereinander sehr nahe stehen. Abermals betone ich hier ausdrücklich, daß alle Reagenzien, wie Alkohol, Äther, Petroläther, Filterpapier usw., kurz alles, was bei den Untersuchungen angewendet worden ist, absolut fettfrei waren. Von dieser Seite her können also die Differenzen nicht stammen. Somit bleibt es unerklärlich, warum der Fettgehalt von Blutserum und Blutplasma, die beide sehr glatt sich verseifen lassen und dabei an-

nähernd gleiche Ausbeute liefern, bedeutend geringer ist, als derjenige des defibrinierten Blutes durch kombinierte Alkoholextraktion. Was die große Differenz des Fettgehaltes zwischen getrocknetem Blutpulver und frischem defibriniertem Blut anbelangt, so kann man wohl darin ihre Erklärung finden, daß das Blut beim Trocknen infolge der Oxydation einen Teil des Fettes verloren hat, wie beim Fleisch. Folgende Versuchsreihe diente zur Entscheidung dieser Frage.

Versuchsreihe IV.

Vergleichende Untersuchungen von kombinierter Alkoholextraktion des frischen defibrinierten Blutes und Heißextraktion desselben in Pulverform.

Versuch 2.

Defibriniertes Blut — Heißextraktion nach Pulverisation.

50 ccm defibrinierten Pferdeblutes IV wurden mit 200 ccm Alkohol (95 %) gemischt, nach einigen Stunden dekantiert, noch einmal mit 50 ccm Alkohol übergossen und wieder dekantiert. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden auf dem Wasserbade eingedampft, zu dem Rückstande jener Bodensatz gebracht, getrocknet und pulverisiert. Das Pulver wog 10,458 g. 2,8104 g davon wurden 5 Stunden lang mit kochendem Alkohol abs. im Apparate extrahiert und der Alkoholextrakt verseift usw. Der Petrolätherextrakt davon betrug 0,0390 g. Hieraus berechnet sich der Fettsäuregehalt (Petrolätherextrakt) des defibrinierten Blutes IV zu

$$0{,}0390 \times \frac{10{,}458}{2{,}8104} \times \frac{100}{50} = 0{,}290 \text{ g/dl.}$$

Versuch 2.

Defibriniertes Blut. — Kombinierte Alkoholextraktion.

Je 10 g defibrinierten Pferdeblutes IV wurden direkt der kombinierten Alkoholextraktion unterworfen.

Die Resultate sind:

Probe-Nr.	Petrolätherextrakt g	Petrolätherextrakt g/dl
1	0,0348	0,348
2	0,0356	0,356
3	0,0424	0,424
4	0,0430	0,430
Summa	0,1558	
Mittel	0,0390	0,390

Übersichtstabelle.

		Petrolätherextrakt
1.	Defibriniertes Pferdeblut IV. Heißextraktion in Pulverform	0,290 g/dl
2.	Defibriniertes Pferdeblut IV. Kombinierte Alkoholextraktion im frischen Zustande	0,390 g/dl

Hiernach ist die Annahme berechtigt, daß der bedeutende Fettverlust des Blutes auf die Oxydation beim Trocknen zurückzuführen ist.

Versuchsreihe V.

Vergleichende Untersuchungen der direkten Verseifung mit der kombinierten Alkoholextraktion für Blutserum und Blutkörperchenbrei.

In der Versuchsreihe III war uns der Befund sehr auffällig, daß die Ausbeute aus dem Blutserum resp. Blutplasma durch direkte Verseifung bedeutend geringer war, als die aus dem defibrinierten Blut durch kombinierte Alkoholextraktion, während in den übrigen Versuchsreihen direkte Verseifung und Alhoholextraktion immer fast gleiche Resultate ergaben. Um zu wissen, ob dieser Unterschied nur durch die Gegenwart von Blutkörperchen bei defibriniertem Blute bedingt wird, habe ich folgende Versuche angestellt.

Versuch 1.

Direkte Verseifung des Blutkörperchenbreies.

10 ccm Pferdeblutkörperchenbrei, aus dem Bodensatz des defibrinierten Blutes V abpipettiert, wurden direkt verseift. Die Ergebnisse sind:

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Petrolätherextrakt g/dl
1	0,0186	0,186
2	0,0130	0,130
Summa	0,0320	
Mittel	0,0160	0,160

Versuch 2.

Kombinierte Alkoholextraktion des Blutkörperchenbreies.

10 ccm desselben Blutkörperchenbreies V wurden der kombinierten Alkoholextraktion unterworfen. Die Ergebnisse sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Petroläther-extrakt g/dl
1	0,0402	0,402
2	0,0398	0,398
Summa	0,0800	
Mittel	0,0400	0,400

Versuch 3.
Blutserum — Direkte Verseifung.

10 ccm Serum desselben Pferdeblutes V wurden direkt verseift. Die Ergebnisse sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Petroläther-extrakt g/dl
1	0,0220	0,220
2	0,0216	0,216
Summa	0,0436	0,436
Mittel	0,0218	0,218

Versuch 4.
Blutserum — Kombinierte Alkoholextraktion.

10 ccm Serum desselben Pferdeblutes V wurden der kombinierten Alkoholextraktion unterworfen. Die Resultate sind:

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Petroläther-extrakt g/dl
1	0,0333	0,333
2	0,0326	0,326
Summa	0,0659	
Mittel	0,0330	0,330

Übersichtstabelle.

Art des Blutes	Art der Bestimmungs-methode	Petroläther-extrakt g	Petroläther-extrakt g/dl
Pferdeblutkörperchen V	Direkte Verseifung	0,0160	0,160
Pferdeblutkörperchen V	Komb. Alkohol-extraktion	0,0400	0,400
Pferdeblutserum V	Direkte Verseifung	0,0218	0,218
Pferdeblutserum V	Komb. Alkohol-extraktion	0,0330	0,330

Nach diesem Resultate läßt sich der größere Fettgehalt des defibrinierten Blutes nicht allein auf die Gegenwart der Blutkörperchen zurückführen, weil der Unterschied des Fettgehaltes zwischen den Körperchen und Serum nicht so groß ist. Es war bei diesem Versuche wiederum auffällig, daß die Resultate der direkten Verseifung und der Alkoholextraktion sehr stark voneinander abwichen. Um diese auffällige Erscheinung nochmals zu prüfen, wurden folgende Versuche ausgeführt.

Versuchsreihe VI.

Vergleichende Untersuchungen der direkten Verseifung und der kombinierten Alkoholextraktion für das Blutserum.

Einerseits wurden je 20 ccm Blutserum direkt verseift, andererseits wurden je 10 ccm Blutserum der kombinierten Alkoholextraktion unterworfen. Da das Restfett im Heißextraktionsrückstande verschwindend klein war (höchstens 0,1 bis 0,2 mg in einer Probe), so wurde es nicht in Rechnung gestellt. Die Resultate der Versuche sind übersichtlich in der umstehenden Tabelle angeordnet.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, gibt das Blutserum unter allen Umständen bei der kombinierten Alkoholextraktion einen bedeutend größeren Fettgehalt, als bei der direkten Verseifung. Daß das defibrinierte Blut und das Blutplasma in dieser Hinsicht sich genau ebenso verhalten wie Serum, haben wir schon oben gesehen. Der Grund, warum speziell die Blutbestandteile allein in dieser Hinsicht von den meisten anderen Geweben abweichen, bleibt uns zurzeit ganz unverständlich. Wie dem auch sei, auf Grund der vorliegenden Untersuchungen muß nunmehr festgehalten werden, daß der Fettgehalt der tierischen Gewebe und Organe für den wissenschaftlichen Zweck sich nur im frischen, wasserhaltigen Zustande ganz richtig ermitteln läßt. Die beste Methode hierzu ist für die meisten Organe die direkte Verseifung nach Kumagawa-Sutō. Zur Fettbestimmung der Blutbestandteile muß indessen ausnahmsweise die kombinierte Methode von Alkoholextraktion und Verseifung unbedingt der direkten Verseifung vorgezogen werden.

Die Ursache des Fettverlustes bei der direkten Verseifung des defibrinierten Blutes suchte ich einstweilen darin, daß das bei

der Verseifung abgespaltene Hämatin infolge seines Eisengehaltes katalytisch einwirke und so die Fettsäure im Momente ihrer Entstehung zum Teil oxydativ sich zersetze. Um diese Hypothese durch Experimente zu prüfen, habe ich im folgenden eine Reihe von Versuchen angestellt. Die bisher gewonnenen gesammelten Petrolätherextrakte wurden gereinigt und in fünf Gruppen geteilt.

Blutarten	Methode	Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	
Blut VI	Direkte Verseifung an 20 ccm Serum ausgeführt	1	0,0358			
		2	0,0356			
		Mittel	0,0357			0,179 g/dl
	Kombinierte Alkoholextraktion an 10 ccm Serum ausgeführt	1	0,0238			
		2	0,0248			
		Mittel	0,0243			0,243 g/dl
Blut VII	Direkte Verseifung an 20 ccm Serum ausgeführt	1	0,0672			
		2	0,0678			
		3	0,0683			
		Mittel	0,0678			0,339 g/dl
	Kombinierte Alkoholextraktion an 10 ccm Serum ausgeführt	1	0,0374			
		2	0,0388			
		Mittel	0,0381			0,381 g/dl
Blut VIII	Direkte Verseifung an 20 ccm Serum ausgeführt	1	0,0734	0,0182	0,0552	
		2	0,0726	0,0176	0,0550	
		3	0,0724	0,0174	0,0550	
				Mittel	0,0551	0,276 g/dl
	Kombinierte Alkoholextraktion an 10 ccm Serum ausgeführt	1	0,0440	0,0080	0,0360	
		2	0,0442	0,0084	0,0358	
				Mittel	0,0359	0,359 g/dl
Blut IX	Direkte Verseifung an 20 ccm Serum ausgeführt	1	0,0468	0,0122	0,0346	
		2	0,0468	0,0124	0,0344	
				Mittel	0,0345	0,173 g/dl
	Kombinierte Alkoholextraktion an 10 ccm Serum ausgeführt	1	0,0258	0,0062	0,0196	
		2	0,0247	0,0058	0,0189	
				Mittel	0,0193	0,193 g/dl

Gruppe 1 als Kontrolle nur mit Verseifungslauge nochmals verseift,

Gruppe 2 mit Platinsol + Natronlauge verseift,

Gruppe 3 mit Ferrum reductum + Natronlauge verseift,

Gruppe 4 mit Hämatin in verschiedener Menge + Natronlauge verseift,

Gruppe 5 mit Weinsäure + Eisenchlorid + Natronlauge verseift.

Alle Proben wurden je 2 Stunden im Dampfbade erhitzt und weiter genau nach der direkten Verseifungsmethode behandelt. Die Ausbeuten schwankten zwar bei einigen Proben, aber die Abnahme betrug nur einige bis höchstens 4 Prozente. Da das verwendete Material an und für sich an Menge sehr klein war, so muß man diese geringfügigen Schwankungen unbedingt auf Operationsfehler zurückführen. Demnach hat sich die obige Hypothese nicht bewahrheitet.

Anhangsweise habe ich von je einer Maus und einem Sperling das ganze Tier in toto der direkten Verseifung unterworfen. Die Verseifung ging ganz glatt. Es resultierte eine gleichmäßige Auflösung, worin sich Kalksalze am Boden sandig ausschieden. Die Petrolätherextrakte waren nur ganz schwach gefärbt.

Die Hauptergebnisse sind im folgenden zusammengefaßt:

1. Wenn man frisches Gewebe oder Organbrei in größerer Menge (über 400 g) auf dem Wasserbade trocknet, so kann der Fettverlust selbst unter Alkoholzusatz über 10% steigen. Trocknet man dagegen den Brei in geringerer Menge mit Alkoholzusatz möglichst schnell, so kann man im günstigsten Falle den Fettverlust unter 1% herabsetzen. Selbst in ganz kleiner Menge steigt der Fettverlust beträchtlich, wenn die Trockendauer zunimmt. Demnach hat längere Einwirkung hoher Temperatur beim Trocknen des frischen Materials auf den Fettverlust einen großen Einfluß.

2. Der Fettverlust der frischen Organe bei dem Trocknen beruht auf der oxydativen Zersetzung der Fettsäuren, denn es tritt fast kein Fettverlust ein, wenn man die Organe durch Evakuation mittels der Quecksilberluftpumpe ohne Temperaturerhöhung trocknet. Diese Art des Trocknens hat indessen wegen der Umständlichkeit praktisch wenig Bedeutung.

3. Die bisher gebräuchlichen Methoden der Fettbestimmungen, bei denen man den durch Extraktion in Pulver-

form festgestellten Fettgehalt einfach durch Berechnung auf das frische Material überträgt, leiden außer an der mangelhaften Extraktion des Fettes aus dem Pulver noch daran, daß das letztere stets einen geringeren Fettgehalt besitzt als dasjenige des ursprünglich frischen Materials, eine Differenz, die je nach der Art des Trocknens bedeutend schwankt. Mir gelang es niemals, den Fettverlust beim Trocknen des frischen Materials auf dem Wasserbade selbst in kleiner Menge mit Alkoholzusatz vollständig aufzuheben.

4. Aus dem Satz 3 geht unmittelbar hervor, daß der Fettgehalt der Gewebe und Organe für den wissenschaftlichen Zweck sich nur im frischen, wasserhaltigen Zustande ganz richtig ermitteln läßt. Hierzu sind zurzeit nur zwei Methoden anwendbar, nämlich entweder die direkte Verseifung des frischen Materials nach Kumagawa-Sutō, oder vollständige Extraktion der Fettarten aus dem frischen Material mittels kalten und heißen Alkohols und darauffolgende Verseifung des Alkoholextraktes (kombinierte Alkoholextraktion). Die erstere Methode ist wegen der Einfachheit und Sicherheit für die meisten Organe bei weitem vorzuziehen. Nur die Blutbestandteile machen in dieser Hinsicht eine Ausnahme. Der Fettgehalt von Blut, defibriniertem Blut, Blutkörperchenbrei, Blutplasma und Blutserum läßt sich nur durch die Alkoholmethode richtig feststellen. Der Grund, warum hier die direkte Verseifung mittels starker Lauge einen geringeren Fettgehalt ergibt, bleibt zurzeit ganz unklar.

5. Betreffs der Aufbewahrung des Materials ist das einfache Hineinlegen der frischen wasserhaltigen Proben in der Verseifungslauge (in einer Konzentration von 20 g zu 100 ccm) die beste und rationellste Methode. Für die Blutbestandteile empfiehlt sich Aufbewahrung in starkem Alkohol.

6. Will man das Material aus bestimmten Gründen in Pulverform erhalten, so kann man dasselbe durch Evakuation mittels der Quecksilberluftpumpe bei Zimmertemperatur ohne Fettverlust in Trockenform überführen. Im Falle, wo man ganz geringe Fettverluste vernachlässigen kann, kann man das Material in kleiner Menge mit Alkoholzusatz auf dem Wasserbade trocknen. Hierbei muß man indes ganz besonders darauf achten, daß man die Trocknungszeit möglichst verkürzt.

7. Was die Fettbestimmung im getrockneten Pulver anbelangt, so ist ebenfalls die Verseifungsmethode einzig die rationellste, wie sie Kumagawa und Sutō ausführlich mitgeteilt haben.

8. Die Frage, ob und wie man das getrocknete Pulver ohne Fettverlust beliebig lange Zeit aufbewahren kann, steht zurzeit noch ganz offen.

9. Die vorliegenden Untersuchungen sind nur auf Skelettmuskel, Herzmuskel, Leber, Niere und Blutbestandteile ausgedehnt. Untersuchungen anderer Gewebe in dieser Hinsicht sind auch sehr erwünscht.

Über fermentative Beschleunigung der Cannizaroschen Aldehydumlagerung durch Gewebssäfte.

I. Mitteilung.

Von

Jakob Parnas.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 10. August 1910.)

Betrachtet man die Ester von Fettsäuren und einwertigen Alkoholen, die in der Natur vorkommen, so fällt die große Zahl solcher Verbindungen auf, die Säure und Alkohol von gleicher Kohlenstoffzahl und von gleichem Bau enthalten.

Folgende Zusammenstellung der wichtigsten Verbindungen dieser Art sei hier angeführt:

Octadecylstearat . .	$C_{18}H_{36}O_2$	$C_{18}H_{38}O$	Bürzeldrüse
Cetylpalmitat . .	$C_{16}H_{32}O_2$	$C_{16}H_{34}O$	Walrat
Carnaubylalkohol-Carnaubasäureester	$C_{24}H_{48}O_2$	$C_{24}H_{50}O$	Wollfett (?)
Psyllostearylalkohol-Psyllostearylsäureester	$C_{33}H_{66}O_2$	$C_{33}H_{68}O$	Psyllawachs
Coccerinsäurecoccerylester . .	$C_{30}H_{60}.OH.COOH$	$C_{30}H_{60}(OH)_2$	Cochenille

Wenn man diejenigen Ester, die von Pflanzen herrühren, nicht in Betracht zieht — die Schicksale von Alkoholen, Aldehyden und Säuren im Pflanzenorganismus sind wenig bekannt — und lediglich die Verbindungen tierischer Herkunft betrachtet, so fällt der oben erwähnte Zusammenhang um so mehr auf, als die einwertigen, hohen aliphatischen Alkohole im Tierreich sehr wenig verbreitet sind. So ist bis jetzt keine Verbindung beschrieben worden, die den Cetylalkohol, den Octadecyl-

alkohol oder den Coccerylalkohol in anderem Zusammenhang enthielte, als mit der entsprechenden Säure.

Wie kann man sich diesen Zusammenhang erklären? Es kann nur von einem genetischen Zusammenhang die Rede sein, denn die Wahrscheinlichkeit eines Zusammentreffens, wie sie sich aus der Verbreitung des Alkohols und der hohen Fettsäure ergibt, ist nicht genügend groß, um das ausschließliche Auftreten gleichartiger Ester (ausschließlich: vom Alkohol aus gerechnet) zu erklären; und an eine spezifische Auswahl des Alkohols zwischen zwei nächst homologen Säuren wird man wohl kaum denken können.

Für einen genetischen Zusammenhang gleichartiger Säuren und Alkohole gibt es drei Möglichkeiten:

I. Der Alkohol entsteht aus der Säure durch Reduktion.

II. Die Säure entsteht aus dem Alkohol durch Oxydation.

III. Die Säure und der Alkohol entstehen durch Umlagerung aus dem ihnen entsprechenden Aldehyd.

Für die Annahme I fehlt jegliche Analogie unter den Reaktionen im tierischen Organismus. Es kommen nur die Reaktionen II und III in Betracht. Aber auch die Annahme II muß bei näherer Betrachtung ausscheiden: die einwertigen aliphatischen Alkohole spielen anscheinend im intermediären Stoffwechsel keine bedeutende Rolle, ihre Verbreitung ist sehr gering; die Annahme, daß Alkohole dem Organismus als Ausgangsmaterial für die Bildung der Carbonsäuren dienen, ließe sich nicht rechtfertigen.

Nimmt man an (III), daß Säure und Alkohol einen gemeinsamen Generator haben, so kann als solcher nur der entsprechende Aldehyd in Frage kommen. Die Reaktion, um die es sich dann handelt, wäre die bekannte Cannizarosche Reaktion.

Sie besteht darin, daß 2 Moleküle eines Aldehyds so umgelagert werden, daß 1 Molekül Ester entsteht; da diese Reaktion gewöhnlich bei alkalischer Reaktion verläuft, so wird der entstandene Ester verseift, und meistens findet man als Reaktionsprodukte direkt die Säure und den entsprechenden Alkohol.

$$2R.CHO = R.CO.O.CH_2R$$

$$R.CO.O.CH_2R + H_2O = R.COOH + R.CH_2OH$$

Die Cannizarosche Reaktion ist charakteristisch für diejenigen Aldehyde, deren Carbonylgruppe weder an CH_3, noch an CH_2, noch an CH gebunden ist; bei allen diesen Aldehyden tritt sie unter dem Einfluß von Alkali ein, so bei aromatischen Aldehyden, dem Formaldehyd, dem α-Oxyisobutylaldehyd. Andere Aldehyde, die α-ständige Methyl-, Methylen-, oder Methangruppen enthalten, erleiden unter Alkaliwirkung die Aldolkondensation, die meistens schneller verläuft als die Cannizarosche Umlagerung. Indessen sind doch Fälle bekannt, wo trotz der scheinbaren Prädisposition für eine Aldolkondensation unter bestimmten Bedingungen nur die Umwandlung in Säure und Alkohol eintritt, so bei dem Isobutyraldehyd, wenn er mit Baryt und Wasser auf 150° erhitzt wird.[1])

A. Lieben, der mit seinen Schülern die Umwandlungen der aliphatischen Aldehyde systematisch studiert hat, äußerte die Ansicht, daß die Cannizarosche Umlagerung eine ganz allgemeine Aldehydreaktion darstellt und bei allen Aldehyden auftreten würde, wenn es gelänge, die Aldolkondensation auszuschließen.[2]) Später zeigte Tischtschenko[3]), daß man durch Einwirkung von Aluminiumalkoholaten auf Aldehyde ganz allgemein die entsprechenden Ester darstellen kann.

Es hängt also nur von den äußeren Reaktionsbedingungen ab, ob ein Aldehyd, der durch eine α-ständige CH-Gruppe zur Aldolkondensation befähigt ist, diese oder die Cannizarosche Umlagerung erleidet. Betrachtet man die Bedingungen, die die Reaktion von Cannizaro begünstigen könnten, so kann man zwei Möglichkeiten unterscheiden:

I. es wird nur die Esterumlagerung eingeleitet (so z. B. durch Aluminiumalkoholat nach Tischtschenko),

II. es wird nur die Esterumlagerung beschleunigt (katalytisch, fermentativ).

In tierischen Gewebssäften findet man fast überall die Bicarbonatreaktion, die in vitro beide hier erwogenen Aldehydreaktionen begünstigt, aber so, daß bei einer konstitutionellen Disposition für die Aldolkondensation diese fast ausschließlich verläuft; sollte also die Cannizarosche Reaktion im tierischen

[1]) Lederer, M. 22, 536, 1901.

[2]) M. 22, 302, 308, 1901.

[3]) Ref. in C. 1906, II, S. 1309, 1552.

Organismus vorkommen, so könnte dies nur mit Hilfe von Fermenten geschehen, die sie beschleunigen. Diese Art von Wirkungen soll den Gegenstand vorliegender Arbeit bilden.

Was den energetischen Charakter der Cannizaroschen Reaktion betrifft, so ist sie ausgesprochen exotherm; ich führe einige Beispiele hier an.[1])

1. Formaldehyd. $2\,CH_2O = CH_3OH + HCOOH$
$[241{,}6\ Cal.] = [170{,}6\ Cal.] + [61{,}7\ Cal.] + 9{,}3\ Cal.$

2. Acetaldehyd. $2\,CH_3CHO = C_2H_5OH + CH_3COOH$
$[558{,}3] = [325{,}7] + [209{,}4] + 23{,}2\ Cal.$

3. Propionaldehyd. $2\,C_2H_5CHO = C_3H_7OH + C_2H_5COOH$
$[868{,}7] = [480{,}3] + [367{,}9] + 21\ Cal.$

4. Isobutylaldehyd. $2\,C_3H_7CHO = C_4H_9OH + C_3H_7COOH$
$[1199{,}8] = [636{,}7] + 517{,}8] + 45{,}3\ Cal.$

5. Benzaldehyd. $2\,C_6H_5CHO = C_6H_5CH_2OH + C_6H_5COOH$
$[1683{,}4] = [895{,}3] + [772{,}8] + 15{,}3$

6. Salicylaldehyd. $2\,C_6H_4(OH)(CHO) = C_6H_5(OH)CH_2OH + C_6H_5(OH)(COOH)$
$[1615{,}2] = [846] + [727{,}1] + 42{,}1.$

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Verbrennungswärmen der an der Reaktion beteiligten Stoffe.

Während Lieben und seine Schule die Beziehungen zwischen der Cannizaroschen Reaktion und der Konstitution der Aldehyde untersuchten, haben H. und A. Euler[2]) in mustergültiger Weise den Mechanismus dieser Reaktion erforscht. Sie untersuchten die Bildung von ameisensauren Salzen aus Formaldehyd und fanden dabei folgende Gesetzmäßigkeiten:

1. Die Bildung von Natrium und Barium-Formiat ist eine Reaktion zweiter Ordnung; bei praktisch konstant gehaltener Konzentration des Formaldehyds ist der Reaktionsverlauf erster Ordnung.

2. Natron und Baryt verhalten sich sehr ähnlich; die Reaktionsgeschwindigkeit in äquivalenten Lösungen beider Basen ist die gleiche; dagegen verläuft die Cannizarosche Reaktion in den vorhergenannten äquivalenten Kalklösungen viel schneller, etwa im Verhältnis 5 : 3.

---

[1]) Die thermochemischen Daten sind aus den Tabellen von Landolt; Börnstein und Meyerhoffer entnommen.

[2]) Ber. 38, 2556, 1905.

3. Die Reaktionskonstante verdreifacht sich etwa bei einer Temperatursteigerung von 10°.

Als biologische Reaktion ist die Cannizarosche Umlagerung wenig beachtet worden. Doch liegen mehrfach Beobachtungen vor, die sich auf diese Reaktion beziehen lassen, obwohl die betreffenden Forscher Oxydationsreaktionen vor sich zu haben glaubten. So hat J. Pohl[1]) Gewebsextrakte in sodaalkalischer Lösung auf Formaldehyd einwirken lassen und die Ameisensäurebildung gemessen; die gebildeten Ameisensäuremengen waren immer sehr gering, sie lagen stets weit unter 50°/₀ der theoretischen Ausbeute; ihre Entstehung läßt sich ungezwungen mit Hilfe der Umlagerung von Cannizaro erklären. Ob eine analoge Erklärung für die Bildung von Salicylsäure aus Salicylaldehyd und von Benzoesäure aus Benzaldehyd gelten kann, wie sie von Schmiedeberg[2]), von Jaquet[3]) und von Jacoby[4]) beschrieben wurde, darüber kann man noch nichts Bestimmtes sagen.

Vor kurzem haben F. Batelli mit L. Stern[5]) die Beobachtung mitgeteilt, daß Acetaldehyd durch Leberbrei in Essigsäure und Äthylaldehyd verwandelt wird. Leider ist die Mitteilung dieser wichtigen Beobachtung nicht mit so überzeugenden Belegen ausgestattet worden, wie dies für die endgültige Anerkennung der Tatsache erwünscht wäre. Bei einem Körper von so großer Umwandlungsfähigkeit wie der Acetaldehyd schließt der Nachweis, daß eine flüchtige Säure und ein die Jodoformreaktion gebender Körper entsteht, andere Möglichkeiten nicht aus;[6])

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 38, 65.

[2]) Ibidem 14, 288 u. 379.

[3]) Ibidem 29, 386.

[4]) Virchows Archiv 157, 235; Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 135; 33, 128.

[5]) Bull. de Soc. biol. 1910, Heft v. 6. Mai.

[6]) So könnte aus Acetaldehyd auch leicht über die Aldolkondensation hinweg Oxybuttersäure und Crotonsäure entstehen; auch könnte man sich denken, daß eine Kondensation nach dem Schema der von Lederer (Monatsh. f. Chem. 22, 536) beobachteten stattfindet, in der Isobutyraldehyd durch eine aus Aldolkondensation und Cannizaroscher Reaktion bestehende Reaktionsfolge unter dem Einfluß von Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur in einen Ester übergeht, dessen Spaltungs-

erst wenn man zeigen könnte, daß aus dem zugesetzten Aldehyd 60% Säure und 40% Alkohol (Jodoform) entstanden sind, wäre der Beweis überzeugend. In der Arbeit von Batelli und Stern handelt es sich aber um erheblich geringere Mengen; die aus einem Gramm Aldehyd gebildeten Mengen Säure und Alkohol liegen in der Größenordnung weniger Zentigramme.

Ich habe die Einwirkung von Lebergewebe auf eine Reihe von Aldehyden untersucht und habe dabei gefunden, daß durch dieses Organ die Cannizarosche Umlagerung so stark beschleunigt wird, daß man aus Aldehyden, die sonst lediglich der Aldolkondensation verfallen, schon nach kurzer Zeit in quantitativer Ausbeute Säure und Alkohol isolieren kann.

Es gelangten zur Untersuchung Schweinsleber und Rindsleber als Brei, Preßsaft und wässeriger Extrakt; ferner Pferdelunge und Rindslunge als Brei, Preßsaft und wässeriger Extrakt. Zur Prüfung der Wirksamkeit dieser Organe wurde der Isovaleraldehyd verwendet: es stellte sich heraus, daß die Leber und ihre Extrakte energisch umlagernd wirkten, Lunge dagegen gar nicht.

Folgende Aldehyde wurden untersucht: Propionaldehyd, n-Butylaldehyd, Isobutylaldehyd, Isovaleraldehyd,

---

produkte ein Glykol (aus 2 Molekülen Aldehyd entstanden) und die Isobuttersäure sind.

$$1.\quad (CH_3)_2CHCHO + (CH_3)_2CHCHO = (CH_3)_2CHCHOH.\overset{\displaystyle CH_3}{\underset{\displaystyle CH_3}{C}}.CHO.$$

$$2.\quad (CH_3)_2CH.CHOH.\overset{\displaystyle CH_3}{\underset{\displaystyle CH_3}{C}}.CHO + (CH_3)_2CH.CHO =$$

$$= (CH_3)_2CH.CHOH.\overset{\displaystyle CH_3}{\underset{\displaystyle CH_3}{C}}.CH_2O.OC.CH(CH_3)_2.$$

Die Reaktionsstufe 1 ist die Aldolkondensation, Stufe 2 die Cannizarosche Reaktion zwischen zwei verschiedenen Aldehyden.

Man kann daran denken, daß diese Reaktion ein einfachstes Analogon von Prozessen darstellt, die von Spaltungsprodukten der Kohlenhydrate direkt zu Glyceriden der hohen Fettsäuren führen: Aldolkondensation mehrerer Aldehydmoleküle, die durch eine Cannizarosche Reaktion zu Ende gebracht wird.

n-Valeraldehyd, Önanthol, Benzaldehyd. Alle wurden energisch durch Lebergewebe umgelagert, Benzaldehyd indessen viel langsamer als die aliphatischen Aldehyde. Salicylaldehyd wurde nicht in nennenswerter Menge umgelagert.

Die Reaktionsbedingungen waren folgende:

1. Konzentration der Aldehyde. Sie wurde meistens so gewählt, daß die Reaktionsmasse 1% Aldehyd enthielt. So wurden z. B. zu 250 g Leberbrei mit 250 g Wasser 5 g Isovaleraldehyd gegeben. In einer Reihe von Versuchen, die in kürzerer Zeit beendet sein sollten, wurde die Flüssigkeit in bezug auf den Aldehyd 0,25% genommen.

2. Konzentration an wirksamer Substanz. In den meisten Versuchen wurde die Ausgangsmenge des Organs vor der weiteren Behandlung mit dem doppelten Gewicht Wasser zusammengebracht.

3. Sauerstoffausschluß. Um eindeutige Werte zu erhalten, mußte natürlich jede Oxydationsmöglichkeit ausgeschlossen werden. Durch den verdünnten Organbrei wurde längere Zeit hindurch Kohlensäure durchgeleitet; nach Zugabe des Aldehyds wurde die Flasche, in der sich das Gemisch befand, unter fortwährendem Kohlensäurestrom schnell verschlossen und gut zugebunden. Da dem Reaktionsgemisch Natriumbicarbonat zugesetzt ist, entwickelt sich während der Reaktion im Innern der Flasche ein erheblicher Überdruck.

4. Temperatur. Durch Hineinstellen der Reaktionsgefäße in einen konstant geheizten Brutschrank oder ein großes Wassergefäß wurde die Temperatur bei 38° gehalten.

5. Reaktion des Gemisches. Die Flüssigkeit war mit Natriumbicarbonat versetzt, und zwar so, daß sie in bezug auf dieses Salz $^{n}/_{10}$ war. Durch Einleiten von Kohlensäure wurde das Gemisch so weit neutralisiert, daß es Phenolphthalein farblos ließ, rotes Lackmuspapier violettrosa färbte. Während der Umlagerung wurde die kohlensaure Reaktion immer stärker. Die Anfangskonzentration der H'-Ionen entspricht der Stufe VIIc der Tabelle von Friedenthal[1]): 10^{-7n} H.

6. Reaktionsgeschwindigkeit. Eine Lösung, die 50% Leber, 1% Isovaleraldehyd und 0,84% Bicarbonat bei großem

[1]) Zeitschr. f. Elektrochemie 1904, 113.

Überschuß von Kohlensäure enthält, ist bei 38° nach 3 bis 4 Stunden so weit umgewandelt, daß kein Aldehyd mehr nachweisbar ist. Für Verdünnung in bezug auf Leber gilt die Schützsche Regel mit großer Genauigkeit.

7. Kautelen gegen bakterielle Wirkungen. Bei kurzdauernden Umsetzungen sind Antiseptica entbehrlich; die stark antiseptische Wirkung der niederen aliphatischen Aldehyde genügt vollständig, um eine Entwicklung von Mikroorganismen hintanzuhalten. Sobald aber der Aldehyd umgewandelt ist, beginnt eine starke Gärung und Fäulnis in dem Leberbrei; deshalb darf man die Versuche nicht zu lange gehen lassen. Zusatz von Toluol (0,2%, auf der Schüttelmaschine energisch durchgeschüttelt) verhindert übrigens die nachfolgende Gärung und Fäulnis, ohne die Cannizarosche Umlagerung zu beeinträchtigen.

Die Versuchsanordnung und Aufarbeitung war kurz folgende: Der Leberbrei, Preßsaft oder Extrakt wurde nach Verdünnen mit Wasser mit Bicarbonat versetzt, dann wurde Kohlensäure durchgeleitet, Aldehyd zugesetzt und das Gefäß verschlossen bei 38° stehen gelassen. Sollte ein Versuch beendet werden, so wurde nach Lüften des Stopfens der Inhalt der Flasche mit Schwefelsäure stark angesäuert und sofort in Kohlensäureatmosphäre mit Wasserdampf so lange destilliert, als noch saure Dämpfe übergingen; im Destillat wurde auf Aldehyd geprüft, im Falle vollständiger Abwesenheit des letzteren wurde die Säure mit Natronlauge titriert. Nachdem dann der Alkohol mit Wasserdampf abdestilliert war, wurde das Salz zur Trockne eingedampft und die Säure daraus entweder isoliert oder in ein Silbersalz verwandelt und so zur Analyse gebracht. Der abdestillierte Alkohol wurde nach Sättigung mit Pottasche durch Ausäthern isoliert, destilliert und analysiert. Vor der Destillation des Organbreis wurden die Eiweißkörper durch Zinksulfat oder Pikrinsäure gefällt.

Der Organbrei wurde durch Schlämmen in der Schlämmühle auf eine so feine Verteilung gebracht, daß fühlbare Stückchen nicht vorhanden waren.

Unter diesen Bedingungen wurden folgende Umwandlungen beobachtet:

Aldehyd	Säure	Alkohol	Bemerkungen
1. Isovaleraldehyd Versuchsreihe I.	Isovaleriansäure	Isoamylalkohol	Schweinsleber. 3 Stunden; quantitative Umwandlung des Aldehyds.

(Fortsetzung der Tabelle S. 281.)

Aldehyd	Säure	Alkohol	Bemerkungen
2. Isovaleraldehyd Versuchsreihe I.	Isovaleriansäure	Isoamylalkohol	Rindsleberbrei. 4 Stunden, vollständige Umsetzung.
3. n-Butylalkohol Versuchsreihe IV.	n-Buttersäure	n-Butylalkohol	Schweinsleberbrei. 3 Stdn., quantitativ.
4. Isobutylaldehyd Versuchsreihe V.	Isobuttersäure	Isobutylalkohol	Schweinsleberbrei. 3 Stdn., quantitativ.
5. Propylaldehyd Versuchsreihe VI.	Propionsäure	—	Schweinsleber. $3^1/_2$ Stdn., quantitativ.
6. Önanthol Versuchsreihe VII.	Önanthsäure	Heptylalkohol	Schweinsleber. 3 Stdn.; quantitativ.
7. n-Valeraldehyd Versuchsreihe III.	n-Valeriansäure	n-Amylalkohol	Schweinsleber. 3 Stdn., quantitativ.
8. Benzaldehyd Versuchsreihe IX.	—	Benzylalkohol	Schweinsleber. 3 Stdn., ca. 10 % der theoretischen Menge Alkohol gebildet.
9. Salicylaldehyd	—	—	Nach 24 Stdn. keine Salicylsäure und kein Alkohol nachweisbar; die Leber sieht wie frisch aus.
10. Aldol Versuchsreihe VIII.	β-Oxybuttersäure	—	Schweinsleber, 0,1 % Toluolzusatz. 5 Stdn., quantitativ; die Oxybuttersäure als Crotonsäure nachgewiesen.

Diese Beobachtungen beziehen sich auf die Frage: Welche Aldehyde werden unter den gegebenen günstigsten Bedingungen in Säure und Alkohol verwandelt und in welchem Umfange vollzieht sich die Reaktion. Die nächste Frage aber ist: Welcher Art sind die Agenzien, die diese Anlagerung bewirken?

Zur Beantwortung dieser Frage sind folgende Versuchsreihen angestellt worden:

I. Kontrollversuche. a) Leberautolyse ohne Aldehydzusatz bei gleicher Versuchsdauer, Temperatur und Alkalescenz des Reaktionsgemisches.

b) Einwirkung von wässerigen Salzlösungen von gleicher Alkalescenz und bei gleicher Temperatur auf die Aldehyde.

II. Versuche, in denen die Beschaffenheit des wirksamen Organs variiert wurde: so durch Erhitzen, Verdünnen, Trocknen; durch Trennung seiner festen und gelösten Bestandteile.

Für die Versuchsreihe II wurde stets der Isovaleraldehyd verwendet: dieser Aldehyd eignet sich dazu am besten, weil seine Umlagerungsprodukte infolge ihrer geringen Löslichkeit im Wasser und ihrer Flüchtigkeit gut zu isolieren sind. Die Versuchsbedingungen werden verändert: das Reaktionsgemisch wurde so gewählt, daß es an Aldehyd 0,25%, an Bicarbonat aber wie in den vorherigen Versuchen 0,84% enthielt. Auf die Isolierung des entstandenen Alkohols wurde verzichtet; die Säure wurde mit Wasserdampf übergetrieben und titriert. Infolge der geringeren Aldehydkonzentration war die Reaktion meistens nach 1 Stunde vollendet. Alle vergleichenden Versuche wurden mit abgemessenen Volumina derselben Organlösung angestellt.

I. Die Kontrollversuche führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Aus Leberbrei wird in der Zeit, die für die Versuche in Betracht kommt, keine Säure gebildet. Die Mengen flüchtiger Säure, die sich im Destillat vorfanden, betrugen 1 bis 2% derjenigen Menge, die nach der gleichen Zeit in 1% Aldehyd enthaltenden Reaktionsgemischen gebildet wurden.

2. Durch $^{n}/_{10}$-kohlensaure Bicarbonatlösungen (Na und NH_4) bei 38° werden 1%ige Isovaleraldehydlösungen langsam umgelagert. Nach 24 Stunden findet man die durch Natriumbicarbonat gebildete Säure in einer Ausbeute von 10% der theoretisch geforderten; der Rest des Aldehyds ist unverändert. Ammoniumbicarbonat dagegen brachte allen Isovaleraldehyd zum Verschwinden, Säure war indessen nur in verschwindend geringer Menge gebildet: die Hauptmenge des Aldehyds war einer Aldolkondensation verfallen. Das Produkt, ein frisch obstartig duftender, unverseifbarer, Aldehydreaktionen zeigender Körper, wurde noch nicht näher untersucht.

Eine Suspension von Kalkcarbonat, mit Kohlensäure gesättigt, bildete in 24 Stunden doppelt so viel Säure aus Isovaleraldehyd als die viel konzentriertere Natriumbicarbonatlösung. Derselben Erscheinung waren schon H. und A. Euler in ihren Untersuchungen über die Cannizarosche Reaktion bei dem Formaldehyd begegnet.

II. Die Versuchsreihe II führte zu folgenden Ergebnissen:

1. Leberbrei, Leberpreßsaft, die trübe Kolatur des Leberbreies und die klar zentrifugierte Kolatur wirken auf Isovaler-

aldehyd gleich schnell umlagernd, wenn sie der gleichen Konzentration an Organgewebe entsprechen.

Folgerung daraus: das wirksame Agens ist ein löslicher Körper und nicht an intakte Zellen gebunden.

2. Durch Erhitzen auf 65°, nachdem ein großer Teil der gelösten Eiweißkörper ausgefallen ist, wird seine Wirkung nicht beeinträchtigt. Durch Erhitzen auf 100° wird er unwirksam gemacht.

Das wirksame Agens ist also thermolabil.

3. Durch Fällen mit Aceton und Trocknen im Vakuumexsiccator wird das wirksame Agens der Leber unwirksam gemacht.

4. Durch Zusatz von Toluol wird es nicht geschädigt.

5. Verdünnt man die Organlösung, ohne dabei die Konzentration des Bicarbonats und des Aldehyds zu verändern, im Verhältnis von 1:2:3:4, so verhalten sich die in der gleichen Zeit gebildeten Säuremengen wie

$$24:17:14:12,$$

also entsprechend der Regel von Schütz wie:

$$1:\frac{1}{\sqrt{2}}:\frac{1}{\sqrt{3}}:\frac{1}{2}.$$

Auf Grund dieser Beobachtungen sowie auch der entsprechenden Beobachtungen von Batelli muß in der Leber ein Enzym angenommen werden, das die Fähigkeit hat, bei neutraler Reaktion und disponiblem Alkali Aldehyde unter Wasseraufnahme in die entsprechenden Säuren und Alkohole umzulagern. Es liegt hier vielleicht ein spezifisches Leberenzym vor; festgestellt wurde allerdings nur, daß es in der Lunge fehlt.

Nach dem bekannten Vorschlag von Lippmann würde diesem Ferment der Name Aldehyd-Alkohol-Säureferment zukommen; da indessen ein Wortgebilde, wie „Aldehyd-Alkacidase" zu kompliziert erscheint, möchte ich den Namen „Mutase"[1]) vorschlagen. Vielleicht existiert eine größere Klasse ähnlicher Umlagerungsfermente, die dann generell als „Mutasen" zu bezeichnen wären; die hier behandelte würde dann „Aldehydmutase" heißen.

---

[1]) Ich verdanke diesen Namen einem Vorschlag von Herrn Prof. F. Hofmeister.

Die biologische Bedeutung der Reaktion von Cannizaro.

Nach den mitgeteilten Versuchen scheint es mir wahrscheinlich, daß die eingangs betrachteten Ester von Säuren und Alkoholen gleicher Kohlenstoffzahl durch Umlagerung des entsprechenden Aldehyds entstehen. Außerdem scheint mir die Cannizarosche Reaktion eine große biologische Bedeutung zu besitzen: sie stellt den einfachsten Fall einer Reduktion im Organismus dar, deren Mechanismus vollständig zu übersehen ist.

Betrachtet man vergleichend die Oxydationen und die Reduktionen des intermediären Stoffwechsels, so fallen sofort große Unterschiede auf, welche die Annahme eines gänzlich verschiedenen Mechanismus für beide Prozesse notwendig machen.

Die Oxydationen verlaufen im Sinne der chemischen Kräfte durchwegs exotherm. Sie werden durch reichlichen Überschuß des Oxydationsmittels (Sauerstoff) und durch wirksame Sauerstoffüberträger beschleunigt; das ganze oxydierende System — Sauerstoff und seine Überträger — wirken wie ein im Überschuß vorhandenes Oxydationsmittel, das die Eigenschaften der Oxydationsmittel der Peroxydklasse (Hydroperoxyd, Persulfat, Carosche Säure), also hydroxylierende Wirkungen, mit den Eigenschaften der anderen Oxydationsmittel (Verbrennung an bereits angegriffenen Stellen) vereinigt.

Anders ist es mit den Reduktionen des intermediären Stoffwechsels. Betrachtet man sie in einem System, das aus dem reduzierbaren Stoff (z. B. einer ungesättigten Säure, einem Keton oder Aldehyd) und Wasserstoff besteht, so wären die Reduktionen freilich exotherm; im Organismus aber ist kein Wasserstoff frei disponibel; sollte er irgendwelche Reduktionen bewirken, so müßte er erst unter Energieaufwand erzeugt werden; dies kann durch intramolekulare Umlagerung oder durch „gekoppelte Reaktionen“, von denen die eine eine exotherme Oxydation oder eine Spaltung ist, geschehen.

Bei dem Überwiegen der oxydativen Vorgänge im Tierkörper hat die letztere Vorstellung bei weitem mehr für sich. Danach wäre die Reduktion der Aldehyde als eine Reaktionsphase in einem System gekoppelter Reaktionen aufzufassen, dessen gesamte Wärmetönung positiv ist.

Von Reduktionen organischer Gruppen im Tierkörper ist zurzeit nur die Reduktion von Aldehyden und Ketonen resp. Ketonsäuren zu Alkoholen bzw. Alkoholsäuren sichergestellt. Es liegen dagegen keine Erfahrungen vor, die zu schließen erlaubten, daß Carboxylgruppen im Organismus reduziert würden.

Die Reduktion von Aldehyden und Ketonen ist an vielen Fällen studiert worden; längst bekannt ist die Reduktion von Chloralhydrat zu Trichloräthylalkohol, der als Glucuronsäureester ausgeschieden wird. Neuerdings haben die Arbeiten von Neubauer[1]) und seinen Schülern, sowie von L. Blum[2]) und von Dakin[3]) mehrere Fälle von Reduktionen der Ketonsäuren zu Oxysäuren kennen gelehrt. So wird aus Phenylglyoxylsäure in der Leber Mandelsäure gebildet, bei Überschwemmung des Hundeorganismus mit großen Mengen Acetessigsäure wird Oxybuttersäure ausgeschieden; nach Dakin wird die letztere Reaktion in großem Umfang schon vom Leberbrei vollzogen.

In der Cannizaroschen Umlagerung der Aldehyde haben wir ein einfaches System gekoppelter Reaktionen kennen gelernt, in dem durch Sauerstoffverschiebung unter Wasseraufnahme gleichzeitig Reduktion und Oxydation stattfindet. Durch ein Ferment der Leber wird diese Reaktion so beschleunigt, daß sie zu einer glatten Vernichtung der Aldehyde führt.

Daß die Cannizarosche Reaktion auch von verschiedenen Aldehyden ausgehend zu gemischten Estern, resp. zu verschiedenartigen Säuren und Alkoholen führen kann, ist aus der oben (S. 279 Anmerkung) behandelten Bildung eines Glykols und von Isobuttersäure aus einem Aldol und Isobutyraldehyd ersichtlich. Sie kann auch intramolekular verlaufen, was aus dem Übergang von Glyoxal in Glykolid resp. Glykolsäure hervorgeht.

Es ist nun sehr wohl möglich, daß durch eine ganz ähnliche Verschiebung des Sauerstoffs aus Ketonen und Aldehyden sekundäre Alkohole und Säuren gebildet werden; dasselbe gilt natürlich auch für Ketonsäuren.

Von diesem Gesichtspunkt aus wären also die Aldehyde als allgemeine Reduktionsmittel anzusehen, die vom tierischen

---

[1]) Neubauer, Habilitationsschrift, München 1908. Neubauer und Groß, Neubauer und Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1910.

[2]) Münch. med. Wochenschr., 26. März 1910.

[3]) Münch. med. Wochenschr., Juli 1910.

Organismus zur Reduktion der Carbonylgruppen verwendet werden. Durch spezifische Fermente wird dann die Cannizarosche Reaktion zwischen beiden reagierenden Stoffen beschleunigt, und es geht aus der Reaktion ein Alkohol (oder eine Oxysäure) und eine Fettsäure hervor.

Die Reaktion von Cannizaro verläuft anaerob: und darin liegt vielleicht ein anderes Moment ihrer Bedeutung. Durch Fermente, welche die Cannizarosche Reaktion beschleunigen, ist im Organismus die Möglichkeit gegeben, giftige Aldehyde auch ohne Sauerstoffzufuhr in unschädliche Säuren und Aldehyde zu verwandeln. Sie wäre also ein wichtiger Weg zur Entgiftung der Aldehyde.

Wenn man von den Aldosen absieht, sind Aldehyde im Organismus kaum nachgewiesen, obgleich an deren steter Bildung im intermediären Stoffwechsel nach chemischen Analogien kein Zweifel bestehen kann. Der Umstand, daß sie nie in größerer Konzentration auftreten, dürfte gerade aus ihrem lebhaften Anteil an den Umsetzungen des Organismus zu erklären sein.

Es ist wohl überflüssig, hervorzuheben, daß diese Bemerkungen über eine etwaige biologische Bedeutung der Umlagerung von Cannizaro nur Vorstellungen Ausdruck gaben, wie sie sich angesichts der fermentativen Beschleunigung dieser Reaktion durch Lebergewebe aufdrängen. Eine Entscheidung darüber, inwieweit diese Vermutungen zutreffen, bleibt natürlich weiteren experimentellen Untersuchungen vorbehalten.

Versuche.

I. Isovaleraldehyd.

1. 250 g Schweinsleberbrei, 5 g Aldehyd, 4,2 g Natriumbicarbonat wurden auf 500 ccm verdünnt und mit Kohlensäure gesättigt. Das verschlossene Gefäß wurde bei 38° vier Stunden lang gehalten, dann wurde der Inhalt mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit wenig Zinksulfat versetzt und so lange mit Wasserdampf destilliert, als noch saure Dämpfe übergingen. Das Destillat zeigte keine Silberreduktion; die Säure wurde darin mit $^{n}/_{10}$-Natronlauge titriert.

Verbrauch: 256 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH,
entsprechend: 2,61 g Isovaleriansäure.

Kontrollversuch a) Wie oben, aber ohne Aldehydzusatz.

Verbrauch des Destillats: 4,8 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

Kontrollversuch b) Wie oben, aber ohne Leber.

Verbrauch des Destillats: 6,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

2. Wie Versuch 1. Das Destillat (α) verbraucht 276 ccm $^n/_{10}$-NaOH,

entsprechend 2,81 g Isovaleriansäure.

Das neutralisierte Destillat (α) wird auf ein Drittel abdestilliert; aus dem Destillat (β) in bekannter Weise der Alkohol isoliert. Er wird scharf getrocknet und destilliert: Sdp. 129 bis 130°. Ausbeute an Destillat: 1,3 g.

0,1730 g geben 0,4302 g CO_2 und 0,2111 g Wasser,
entsprechend 67,82 % C und 13,62 % H
berechnet für $C_5H_{12}O$: 68,18 % C und 13,63 % H.

Aus dem Rückstand des Destillats (α) wird das Silbersalz der Säure dargestellt: lichtempfindliche, flache Nadeln.

0,2656 g geben 0,1373 g Silber,
entsprechend 51,69 % Ag,
berechnet für $C_5H_9O_2Ag$: 51,67 % Ag.

3. Wie Versuche 1 und 2. Temperatur: 35°. Dauer: 5 Stunden. Das Destillat wird auf freie Säure und auf Alkohol verarbeitet.

Sdp. des Alkohols: 131° korr. Ausbeute: 1,1 g.
Sdp. der Säure 175° korr. Ausbeute 1,8 g.
Acidität der Säure: 0,3616 g verbrauchen 36,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH,
entsprechend dem Mol.-Gew. 100,4,
berechnet für $C_5H_{10}O_2$: 102,0

Silbersalz: 0,3566 g geben 0,1855 g Silber,
entsprechend 52,02 %,
berechnet: 51,67 %.

4. Wie 3, 2, 1.
Sdp. der Säure: 175° korr. Ausbeute 2 g.
Acidität: 0,2876 verbrauchen 28,01 ccm $^n/_{10}$-NaOH,
entsprechend einem Mol.-Gew. 102,7,
berechnet für $C_5H_{10}O_2$ 102,0.

Elementaranalyse der Säure:

0,1076 g geben 0,2320 g CO_2 und 0,0935,
entsprechend 58,80 % C und 9,72 % H,
berechnet für $C_5H_{10}O_2$: 58,82 % C und 9,65 % H.

5. 250 g Brei aus Pferdelunge, 1 g Isovaleraldehyd, 4,2 g Natriumbicarbonat auf 500 ccm verdünnt, lange Kohlensäure durchgeleiten, wurden verschlossen während 8 Stunden bei 35° digeriert. Das Wasserdampfdestillat verbrauchte 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-Natronlauge. Der Aldehyd wurde aus dem Destillat ausgeäthert und als Bisulfitverbindung isoliert. Erhalten: 1,8 g Bisulfitverbindung.

6. Preßsaft aus 250 ccm Pferdelunge, 1 g Isovaleraldehyd, 4,2 g Bicarbonat auf 500 ccm verdünnt. Sonst wie oben.

Das Destillat verbraucht: 3,8 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH.

Das Destillat enthält viel Isovaleraldehyd.

II. Kontrollversuche.

7. 5 g Isovaleraldehyd, 4,2 g Natriumbicarbonat, 500 g Wasser; das Gemisch, mit Kohlensäure übersättigt, wurde verschlossen bei 37° während 24 Stunden digeriert.

Die Aufarbeitung erfolgte wie in den Leberversuchen: Das Destillat verbraucht: 32 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH,

entsprechend: 0,32 g Isovaleriansäure.

8. 5 g Isovaleraldehyd, 5 g Calciumcarbonat in 500 ccm Wasser, mit Kohlensäure gesättigt. Versuchsdauer: 24 Stunden. Aufarbeitung wie in 7.

Das Destillat verbraucht 79,1 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, entsprechend 0,8 g Säure.

III. n-Valeraldehyd.

9. Die Versuchsanordnung war wie in den Versuchen 1 bis 4. Versuchsdauer 3,5 Stunden. Es wurden zugesetzt: 5 g n-Valeraldehyd. Sdp. 103° korr. Das Destillat verbrauchte 281 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, es wurden also 2,8 g Säure gebildet.

Säure und Alkohol wurden in der üblichen Weise isoliert. Sdp. der Säure 185°. Acidität: 0,3562 g verbrauchen 35,33 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, entsprechend dem Mol.-Gew. 100,8, berechnet für $C_5H_{10}O_2$ 102.

Ausbeute an Säure: 1,7 g.
Ausbeute an Alkohol (destilliert): 1,3 g,
Sdp. des Alkohols: 137,5° (korr.).

IV. n-Butylaldehyd.

10. Versuchsanordnung wie in 1 bis 4 und 9. 5 g n-Butylaldehyd. Versuchsdauer: 3 Stunden bei 38°.

Das Destillat verbraucht: 263,7 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, entsprechend 2,32 g Buttersäure.

Silbersalz: 0,2378 g geben 0,1317 g Ag,
entsprechend 55,38 % Ag,
berechnet für $C_4H_9O_2Ag$: 55,35 % Ag.

Der Alkohol wurde durch zweimalige Destillation seiner mit Pottasche gesättigten Lösung und schließlich durch Ausäthern gewonnen.

Sdp. 116,5°. Ausbeute (destilliert) 1,2 g.

V. Isobutyraldehyd.

11. 5 g Isobutyraldehyd.

Versuchsanordnung wie in 10. Versuchsdauer 4 Stunden bei 38°. Das Destillat verbraucht: 338 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, entsprechend 2,9 ccm Isobuttersäure.

Es wurden die Säure und der Alkohol isoliert.

Isobuttersäure: Sdp. 155° korr. Ausbeute: 1,8 g.

Acidität: 0,3402 g verbrauchen 38,68 korr. $^{n}/_{10}$-Natronlauge, entsprechend einem Mol.-Gew.: 87,75.

Alkohol: Sdp. 108,5 korr. Ausbeute 1,0 g.

0,1008 g geben 0,2394 g CO_2 und 0,1234 g H_2O,
entsprechend 64,62 % C und 13,72 % H,
berechnet $C_4H_{10}O$: 64,85 % C und 13,62 % H.

VI. Propionaldehyd.

12. Versuchsanordnung wie in 11. Dauer: 5 Stunden. Temperatur 38°. Destillat verbraucht: 400 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH, entsprechend 3 g Propionsäure.

Die Säure wurde isoliert. Sdp. 140,5° korr. Ausbeute 2,2 g.

Silbersalz: 0,4256 g geben 0,2537 g Ag,
entsprechend 59,61 % Ag,
berechnet für $C_3H_5O_2Ag$: 59,63 % Ag.

Der Alkohol wurde in diesem Versuch nicht isoliert.

VII. Önanthol. Sdp. 155°.

13. Versuchsanordnung wie in den vorherigen Versuchen. Das Reaktionsgemisch (5 g Önanthol), wird $^{1}/_{2}$ Stunde lang auf der Maschine geschüttelt, bevor er in den Brutofen gelangt. Versuchsdauer: 6 Stunden.

Das Wasserdampfdestillat verbraucht 206 ccm $^n/_{10}$-NaOH, entsprechend 2,67 g **Önanthylsäure.**

Es wurden die Säure und der Alkohol isoliert.

Sdp. der Säure 221,5° korr. Ausbeute 2,05 g. F.-P. — 12°.

Acidität: 0,5627 g verbrauchen 43,25 ccm $^n/_{10}$-NaOH,
entsprechend dem Mol.-Gew.: 130,1,
berechnet $C_7H_{14}O_2$: 130.

n-Heptylalkohol: Sdp. 176° korr. Ausbeute: 1,3g.

Elementaranalyse: 0,2620 g geben 0,6972 g CO_2 und 0,3216,
entsprechend 72,58% C und 13,73% H,
berechnet für $C_7H_{16}O$: 72,41% C und 13,79% H.

VIII. Aldol.

14. 2 g Aldol, 100 g Schweinsleberbrei, 1,68 g Bicarbonat. 0,2 g Toluol, auf 200 ccm verdünnt, wurden mit Kohlensäure gesättigt 1 Stunde lang auf der Maschine geschüttelt und dann 5 Stunden lang im Brutofen stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde mit Zinksulfat und Schwefelsäure enteiweißt, der Rest des Eiweißes mit Tannin gefällt; dann mit überschüssiger Schwefelsäure destilliert.

Aus dem neutralisierten und eingedampften Destillat wurde durch Äther eine geringe Menge (0,4 g) feste, krystallisierte Crotonsäure isoliert: Schmelzp. 70°.

Auf Grund dieses vorläufigen Versuches läßt es sich nicht entscheiden, ob der Aldol selbst die Cannizarosche Umlagerung erleidet, oder ob er zuerst in Crotonaldehyd übergeht und dieser in Crotonsäure verwandelt wird.

IX. 15. Benzaldehyd. Die Versuchsanordnung war wie in den gewöhnlichen vorangehenden Leberaldehydversuchen. Nach 3 Stunden ist die Umwandlung noch sehr unvollständig. Es wurden zwei Versuche zusammen aufgearbeitet:

Aus dem ätherischen Auszug des Destillates ließen sich 16 g Aldehydbisulfitverbindung isolieren. Die ätherische Lösung wurde nach Entfernung des Aldehyds mit Alkali ausgeschüttelt, gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es hinterblieb eine geringe Menge Benzylalkohol.

Sdp. 206° korr. Ausbeute nach Destillation: 0,4 g. Keine Aldehydreaktionen.

X. Versuch, betreffend den Einfluß der Verdünnung auf die Reaktionsgeschwindigkeit.

16. 250 g Leberbrei (Rinderleber) wurden auf 500 ccm verdünnt, 4 Proben von je 100 ccm davon entnommen; die eine wurde unverdünnt gelassen, die andere auf 200, 300 und 400 ccm verdünnt. Von den verdünnten Proben wurden je 100 ccm entnommen und für den Versuch verwendet: zu jeder wurde 1 g Isovaleraldehyd und 0,89 g Natriumbicarbonat zugesetzt, dann mit Kohlensäure gesättigt. Temperatur: 38°. Versuchsdauer: 1 Stunde.

Die Aufarbeitung geschah wie in den anderen Versuchen. Die Destillate verbrauchten:

Relative Konzentration	NaOH ($^n/_{10}$) ccm
1	24,15
$^1/_2$	17,1
$^1/_3$	14,05
$^1/_4$	12,14

Also verhalten sich die Reaktionsgeschwindigkeiten bei steigenden Verdünnungen mit großer Annäherung wie die Quadratwurzeln der Konzentrationen.

Es könnte gegen diesen Versuch der Einwand gemacht werden, daß hier die Reaktionsgeschwindigkeit in einem unübersehbaren heterogenen System gemessen wird. Der folgende Versuch ist mit klarem Leberpreßsaft ausgeführt.

17. Der Preßsaft aus 500 g Leber wird auf 500 ccm verdünnt, die Lösung in zwei Teile geteilt, einer davon auf das Doppelte verdünnt, davon die Hälfte genommen. Es wurden hinzugefügt: je 2,1 g Bicarbonat, Kohlensäure im Überschuß und je 1 g Isovaleraldehyd. Nach einstündigem Digerieren bei 33° wurden Proben von je 150 ccm aufgearbeitet. Es wurden verbraucht:

Unverdünnt: 25,4 ccm $^n/_{10}$-NaOH,
auf das Doppelte verdünnt: 18 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

XI. Betreffend Zerstörbarkeit der Aldehyd-Mutase.

18. 500 g Leber werden auf 1000 ccm verdünnt; vor der Verdünnung werden 8,4 g Na-Bicarbonat hinzugefügt und die Lösung mit Kohlensäure gesättigt. Das Ganze wird in 4 Teile von je 250 ccm geteilt.

Teil a) wird unverändert, ohne Aldehyd stehen gelassen,
Teil b) wird aufgekocht,
Teil c) wird auf 65° während 10′ erwärmt,
Teil d) wird unverändert gelassen.

In den Portionen b, c und d wird bei 35° nach neuer Sättigung mit Kohlensäure je 1 g Isovaleraldehyd zugesetzt und alle drei Portionen bei 35° während 6 Stunden digeriert. Die Aufarbeitung geschah wie gewöhnlich.

Es verbrauchten:

Destillat a) 0,7 ccm $^n/_{10}$-NaOH,
Destillat b) 2,8 ccm $^n/_{10}$-NaOH,
Destillat c) 44,8 ccm $^n/_{10}$ NaOH,
Destillat d) 43,8 ccm $^n/_{10}$ NaOH.

19. 250 ccm Leberbreilösung von der in 18. benutzten Konzentration wurden mit Aceton gefällt, und im evakuierten Exsiccator 2 Tage lang über Schwefelsäure getrocknet. Dann wurde die harte, trockene, dunkelbraune Masse mit 250 ccm Wasser in Lösung gebracht, mit 2,1 g Bicarbonat versetzt, mit Kohlensäure gesättigt und Isovaleraldehyd zugegeben. Es wurde die Lösung bei 37° 6 Stunden lang digeriert.

Das Destillat verbrauchte: 3,4 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

XII. 750 g Schweinsleber wurden folgendermaßen verarbeitet:

Aus 250 g wurde Preßsaft hergestellt.

500 g wurden geschlämmt, koliert, die Kolatur wurde mit 10,5 g Bicarbonat versetzt und auf 1250 ccm verdünnt. Dann wurden Versuche mit je 250 ccm der Lösung (nach Sättigen mit Kohlensäure) angestellt:

20. Kontrollversuch: 250 ccm Wasser, 2,1 g Bicarbonat mit Kohlensäure gesättigt, 1 g Isovaleraldehyd. Dauer: 6 Stunden. Temperatur: 38°.

Destillat verbraucht: 3,8 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

21. Kontrollversuch: 250 ccm Kolatur (wie oben beschrieben). Dauer: 6 Stunden. Temperatur: 38°.

Destillat verbraucht: 4,6 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

22. 250 ccm Colatur mit 1 g Isovaleraldehyd versetzt. Dauer: 6 Stunden. Temperatur: 38°.

Destillat verbraucht: 43,9 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

23. Preßsaft aus 250 g Leber, die Hälfte auf 250 ccm verdünnt, mit 2,1 g Bicarbonat und 1 g Isovaleraldehyd versetzt. Dauer: 6 Stunden. Temperatur: 38°.

Destillat verbraucht: 44,8 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

24. 250 ccm Kolatur auf 65° erwärmt. Versuch wie 22.

Destillat verbraucht: 42,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

25. 500 ccm der trüben Kolatur wurden scharf zentrifugiert und so in zwei Hälften geteilt, daß eine von dem klaren Zentrifugat, die andere von dem Zentrifugat mit Satz gebildet wurde.

a) Klares Zentrifugat wurde mit 1,5 ccm Isovaleraldehyd versetzt.

b) Zentrifugat mit Satz ebenso.

Dauer: 6 Stunden. Temperatur: 35°.

Destillat a) verbraucht: 77,2 ccm $^n/_{10}$-NaOH,

Destillat b) verbraucht: 78 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

XIII. 250 g Schweinsleberbrei wurden auf 500 ccm verdünnt, mit 4,2 g Bicarbonat versetzt, in zwei Hälften geteilt. Teil a) wurde mit 1 g Isovaleraldehyd und 0,5 g Toluol versetzt, Teil b) wurde nur mit 1 g Isovaleraldehyd versetzt.

Dauer: 3 Stunden. Temperatur: 38°.

Destillat des Teils a) verbraucht: 45,6 ccm $^n/_{10}$-NaOH,

Destillat des Teils b) verbraucht: 46,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

Zusammenfassung:

Es wurde gefunden, daß die Leber ein lösliches Ferment enthält, das imstande ist, die Cannizarosche Umlagerung der Aldehyde zu beschleunigen. Dieser Befund wurde an einer Reihe aliphatischer Aldehyde geprüft; die Wirkungsweise und die Eigenschaften des Fermentes, für das der Name „Aldehydmutase“ vorgeschlagen wird, wurden untersucht und Betrachtungen über die biologische Bedeutung der Cannizaroschen Reaktion daran geknüpft.

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

XIII. Mitteilung.

Die chemische Zusammensetzung des Rückenmarks.

Von

Ludwig Dimitz.

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung zu Wien.)

(Eingegangen am 18. August 1910.)

So sehr die Kenntnis des Rückenmarkes durch physiologische, anatomische und histologische Untersuchungen erweitert und vervollkommnet wurde, so gering sind unsere bisherigen Erfahrungen über die chemische Zusammensetzung desselben. Es mag wohl von vornherein wahrscheinlich erscheinen, daß das jedenfalls in ausgedehnterer Weise untersuchte Gehirn mit dem Rückenmark in seinem chemischen Aufbau identisch sei. Dieser Umstand nun hat vielleicht viele Forscher von einem genaueren chemischen Studium des Rückenmarkes abgehalten. Und doch ist die Untersuchung des gesamten Nervensystems wichtig, denn unsere Kenntnisse über den Stoffwechsel in den nervösen Zentralorganen sind noch sehr gering. Die Erforschung intermediärer Stoffwechselvorgänge muß jedoch die Kenntnis des normalen chemischen Aufbaues zur Grundlage haben. Nicht zuletzt wird für histologische Untersuchungen das genauere Studium der Chemie der nervösen Organe von Wichtigkeit sein, da wir erst nach Isolierung chemisch differenter Substanzen erfahren werden, was unsere tinktoriellen Resultate eigentlich bedeuten.

Halliburton[1]) hat bereits festgestellt, daß im Gehirn verschiedener Spezies und im Rückenmark des Ochsen übereinstimmende Eiweißkörper vorkommen. Zwei derselben sind Neuroglobuline, von denen eins bei 47° (Neuroglobulin α) und eines zwischen 70 und 75° gerinnt (Neuroglobulin β); ferner fand er ein Nucleoalbumin. Er konstatierte, daß die Eiweißkörper in der grauen Substanz in größerer Menge vorhanden sind als in der weißen, daß dieselben in der weißen Substanz des Gehirns stärker hervortreten als im Rückenmark. Diese Eiweißkörper betragen nach Halliburton im Rückenmark durchschnittlich 31%, und zwar im Brustteil 28, im Lendenteil 33, im Halsteil 31% der Trockensubstanz. Diese Werte sind im Vergleich zu den Linnertschen[2]) Untersuchungen am Rinderrückenmark auffallend hoch.

Über die Lipoide des Rückenmarkes ist noch sehr wenig bekannt. Anschließend an die vergleichend-chemischen Untersuchungen, die von S. Fränkel und K. Linnert[2]) in der Reihe dieser Mitteilungen über Lipoide veröffentlicht worden sind, haben wir es unternommen, eine Serie von Rückenmarkspräparaten auf ihren Lipoidgehalt zu untersuchen, die Verhältnisse einzelner Lipoidgruppen untereinander sowie ihre physiologischen Schwankungen zu studieren, und wir glauben, daß sich daraus besonders auch im Vergleich zum Gehirn und zu den peripheren Nerven manche interessante Tatsachen feststellen lassen.

Wir haben die Rückenmarkspräparate möglichst frisch, kurze Zeit nach ihrer Entnahme aus der Leiche untersucht. Die Präparate wurden von ihren Häuten und von Blut möglichst befreit und tunlichst zerkleinert, sodann nach Fränkels Verfahren der fraktionierten Extraktion der Gehirnlipoide[3]) untersucht. Die gefundenen Werte sind in den Tabellen, die dem Schlusse dieser Arbeit angefügt sind, zusammengestellt.

Wir können mit gewisser Sicherheit folgende Gruppen von Lipoiden erkennen und trennen:

1. Cholesterine;
2. die ungesättigten acetonlöslichen Phosphatide;

---

[1]) Halliburton, Die Albuminstoffe nervöser Gewebe. Journ. of Physiol. 15, 70 bis 107.

[2]) K. Linnert, Vergleichend-chemische Gehirnuntersuchungen. Diese Zeitschr. 26, 44, 1910.

[3]) S. Fränkel, Über ein neues Verfahren der fraktionierten Extraktion der Gehirnlipoide. Diese Zeitschr. 19, 254, 1909.

3. die ungesättigten acetonunlöslichen Phosphatide; hierher gehören Kephaline, Myeline, Sahidin;
4. die gesättigten Phosphatide einschließlich der Sphingogalaktoside und Sulfatide.

Der Wassergehalt des Rückenmarkes.

In den Präparaten 1 und 2 wurde der Wassergehalt derart bestimmt, daß die gereinigte Substanz, nachdem sie auf einem tarierten Porzellanschälchen zerkleinert und gewogen war, im Thermostaten bei 100° bis zur Konstanz getrocknet wurde. Dabei fanden wir den Wassergehalt etwas niedriger als 71%. In den folgenden Versuchen wurden das feuchte Rückenmark, der getrocknete Acetonextrakt und der konstant getrocknete Rückstand des extrahierten Rückenmarkes gewogen. Dabei fielen die berechneten Wasserwerte durchwegs höher aus. Diesen Wasserwerten kommt aber gewiß mehr Genauigkeit zu als den zuerst gefundenen. Es scheint, daß durch die Trocknung im Thermostaten bei 100° nicht die ganze Wassermenge entzogen werden kann; es sei denn, daß man das zerkleinerte Material auf eine größere Oberfläche verbreitet, was aber der weiteren quantitativen Verarbeitung hinderlich wäre. Selbst dann ist noch fraglich, ob die Entfernung von Quellungswasser aus den kolloidalen Substanzen bei 100° vollständig gelingt. Wir legen daher auf die nach Berechnung der Acetonextraktion gefundenen Werte mehr Gewicht.

Bei Bestimmung des Wassergehaltes werden natürlich immer gewisse Schwankungen vorkommen. Dieselben sind durch unvermeidliche Schwierigkeiten, die sich der Technik entgegenstellen, bedingt. Es hängt nach unseren Erfahrungen sehr viel davon ab, wann das Material nach Entnahme aus der Leiche zur Aufarbeitung gelangt und wie es inzwischen aufbewahrt wurde. Wir ließen die Rückenmarkspräparate sofort, nachdem sie der Leiche entnommen waren, noch umgeben von ihren Häuten, in geschlossenen Gläschen im Eiskasten aufbewahren, bis sie nach wenigen Stunden schon zur Aufarbeitung gelangten.

Weiter aber werden sich Schwankungen ergeben durch die relative Verschiedenheit in der Größe des Zentralkanals, in der Füllung desselben mit dem Liquor cerebrospinalis. Ferner lassen sich die Blutgefäße von der Oberfläche des Rückenmarkes

nicht immer gleich gut entfernen, jedoch sind diese letzterwähnten Beimengungen von Blut für die Wasser- oder auch für die Lipoidbestimmung nur von ganz minimaler Bedeutung.

Aus unseren Wasserbestimmungen ergibt sich also beim Erwachsenen:

als mittlerer Wert: 73,80% (= 26,20% Trockensubstanz),
„ höchster „ 76,37% (= 23,63% „),
„ niedrigster „ 72,04% (= 27,96% „).

Die Schwankungen betragen also ca. 4%, resp. + 2,57 bis — 1,76% vom mittleren Wert.

Man wird also, schon aus den oben angeführten Gründen und aus den eben angeführten Schwankungen zu schließen, in Differentialuntersuchungen nur bei Einhaltung möglichst gleicher Versuchsanordnungen und nur bei größeren Entfernungen von diesen Durchschnittswerten verläßliche Schlußfolgerungen machen dürfen.

Wir haben ferner den Wassergehalt des Rückenmarkes bestimmt:

an einem Embryo im 5. Lunarmonat mit 88,29%
(= 11,71% Trockensubstanz),
bei vier an Pneumonie verstorbenen Säuglingen im Alter von 1 bis 6 Tagen mit durchschnittlich 86,86%
(= 13,14% Trockensubstanz),
und an einem 8 Monate alten Mädchen (Pneumonie) 83,48%
(= 16,52% Trockensubstanz).

Wie überhaupt der gesamte Organismus mit fortschreitendem Wachstum wasserärmer wird, läßt sich dies also auch nach unseren Befunden deutlich am Rückenmark und nach den Untersuchungen K. Linnerts[1]) wahrscheinlich auch am Gehirn konstatieren.

Aus dem höheren Wassergehalte der Präparate 13 und 15 lassen sich keine Schlußfolgerungen ziehen. Worauf dieselben beruhen, entzog sich unserer Beobachtung.

Beim Vergleich mit Menschenhirn nähern sich die von uns gefundenen Werte jenen, die Linnert für die weiße Substanz des Gehirns (70,18%) gefunden hat, und kommen ziemlich gleich dem Wassergehalte der Brücke und des ver-

[1]) l. c.

längerten Markes (72,50 %). Das Rückenmark ist bedeutend wasserärmer als die graue Rinde des Menschenhirns (83,62 %); bedeutend wasserreicher als die peripheren Nerven, deren Wassergehalt zwischen 57 und 64 %[1]) schwankt.

Nach den Untersuchungen von Halliburton[2]) ist der Wassergehalt im Halsanteil und Lendenanteil des Rückenmarkes um ca. 3 % höher als im Brustteil.

Es ist eine durch Untersuchungen von Halliburton, Linnert und anderen festgestellte Tatsache, daß die graue Substanz wasserreicher, die weiße wasserärmer ist. Es muß also der Wassergehalt nervöser Organe, die aus weißer und grauer Substanz bestehen, dem Mischungsverhältnis beider Substanzarten proportional sein.

Nach Bibra[3]) schwankt der Wassergehalt des Rückenmarkes verschiedener Tierspezies ungemein, ist in Ausnahmefällen sogar höher als die von ihm beim Menschen (nur 66 %!) gefundenen Werte.

Nach Udránszky[4]) scheint der Wassergehalt des Rückenmarkes beim Hunde geringer zu sein als beim Menschen, und er beobachtete an zwei mit Wut behafteten Hunden eine Steigerung des Wassergehaltes im Rückenmark um 3 bis über 4 %.

Zusammenfassend ergibt sich also aus den verschiedenen Beobachtungen kurz folgendes Resultat:

Der Wassergehalt des Rückenmarkes beträgt beim erwachsenen Menschen 72 bis 76 %.

Diese Schwankungen beruhen auf unvermeidlichen Fehlern bei der Bestimmung, auf anatomischen Verschiedenheiten in der lichten Weite des Zentralkanals, ferner auf als physiologisch anzusprechenden, uns nicht bekannten Ursachen.

Der Wassergehalt nimmt mit zunehmendem Wachstum ab und ist innerhalb verschiedener Abschnitte des Rückenmarkes von dem Mengenverhältnis zwischen grauer und weißer Substanz abhängig.

Der Wassergehalt des Rückenmarkes beim Menschen ist höher als bei den meisten Tieren.

---

[1]) S. Fränkel, Deskriptive Biochemie. Wiesbaden 1907.

[2]) l. c.

[3]) C. Bibra, Vergleichende Untersuchungen über das Gehirn der Menschen und Tiere. Mannheim 1854. — Über das Rückenmark und die Nerven. Annal. d. Chem. u. Pharmakol. 91.

[4]) L. v. Udránszky, Chemische Veränderungen des zentralen Nervensystems im Verlauf von Wasserscheu. Orvosi hetilap, Budapest 1892, 543. — Magyar orvosi archivum, 1208. — Ungarisches Archiv f. Mediz., 1223.

Gewisse Erkrankungen können den Wassergehalt des Rückenmarkes steigern (Lyssa beim Hund).

Wie weit unter physiologischen oder pathologischen Umständen eine Wasserverarmung des Rückenmarkes möglich ist, ist nicht bekannt. Selbstverständlich ist der größte Teil des Wassers, welcher der Quellung des Organes dient, im lebensfrischen Zustand so fest gebunden, daß er demselben nicht ohne weiteres entzogen werden kann. Denn in den Versuchen von Chossat, die von C. Voit bestätigt wurden, hat es sich herausgestellt, daß selbst bei maximalem Hungerzustand das gesamte zentrale Nervensystem höchstens eine Einbuße an Gewicht von 2 bis 3% erleidet, woraus folgt, daß selbst bei maximalen Verlusten des ganzen Körpers diese Nervengewebe nicht tangiert werden.

Der Cholesteringehalt des Rückenmarkes.

In den Präparaten 1 und 2 wurde das im Thermostaten getrocknete Material direkt der Extraktion mit heißem Aceton unterzogen; in den Präparaten 3 und 4 das zerkleinerte, noch feuchte Rückenmark.

Die erste Methode lieferte, wie früher ausgeführt wurde ungenaue Wasserwerte, bei der zweiten Methode kam es beim Abdestillieren des Äthers zu außerordentlich lästigem Überschäumen. Es sind also diese beiden Arten der Acetonextraktion nicht zu verwenden.

Wir beobachteten daher in den folgenden Untersuchungen einen anderen Vorgang:

Das zur Extraktion vorbereitete und gewogene Rückenmark wurde in eine dem Soxhletapparat angepaßte Hülse aus Filtrierpapier quantitativ eingefüllt und nun durch ca. 24 Stunden in kaltem Aceton stehen gelassen. Dann erst wurde die Masse mit heißem Aceton im Soxhlet auf dem Wasserbade erschöpfend extrahiert. Diese beiden Acetonextrakte wurden nun getrennt durch Destillation tunlichst eingeengt, der Rückstand im Thermostaten konstant getrocknet und gewogen.

Durch dieses Verfahren wurde das störende Überschäumen beim Einengen bedeutend gemildert. Beim Erkaltenlassen einer eingeengten Acetonlösung krystallisierte Cholesterin in großen Krystallen aus. Der Rückstand des Rückenmarkes aber wurde nun ebenfalls im Thermostaten bei 100° konstant getrocknet

und sodann gewogen, um den Wassergehalt, resp. den Wert der Trockensubstanz bestimmen zu können. Daß hierbei die Gewichtsverhältnisse der Hülse in der Berechnung zu berücksichtigen sind, ist selbstverständlich.

Da wir die Erfahrung machten, daß insbesondere das Kephalin Cholesterin sehr hartnäckig zurückhält und daß in den Acetonextrakt geringe Mengen eines Phosphatids hineingehen, so haben wir es vorgezogen, das sowohl im Acetonextrakt als auch im Petrolätherextrakt befindliche Cholesterin zusammen quantitativ zu bestimmen. Wir bedienten uns hierzu eines von A. Windaus[1]) angegebenen, sehr gut verwendbaren Verfahrens, das an dieser Stelle in seiner Anwendung auf unsere Untersuchungen beschrieben werden soll. Die näheren Details sind in der zitierten Arbeit von Windaus zu finden.

A. Windaus beobachtete, daß Cholesterin in alkoholischer Lösung von Digitonin fast vollständig quantitativ als Komplexverbindung ausgefällt wird, und bestimmte auf Grund dieser Beobachtung Cholesterin und Cholesterinester in normalen und pathologisch verfetteten Nieren, wobei er die zerkleinerten und mit Gips gehärteten Nieren in pulverisiertem Zustand sehr lange mit Äther oder Petroläther extrahierte. Der Extrakt wurde dann eingedampft, mit der 30fachen Menge 95%igen heißen Alkohols wieder gelöst und mit Digitonin gefällt.

Wir gingen, unserem Extraktionssystem entsprechend, etwas anders vor. Es wurde der Rückstand des Acetonextraktes mit jenem des Petrolätherextraktes, der später beschrieben wird, vereint. Es ist wohl anzunehmen, daß in diesen beiden Extrakten das gesamte Cholesterin des Rückenmarkes enthalten ist. Die vereinten Substanzen wurden nun mit einer sehr reichlichen Menge heißen 95%igen Alkohols aufgenommen, und zwar soweit die vorhandene Substanz in siedendem Alkohol löslich war. Die heiße Lösung wurde in einem Meßkolben bis zur Marke aufgefüllt, und sodann in einem aliquoten Teil derselben mit einer 1%igen Lösung von Digitonin in 95%igem Alkohol die Fällung ausgeführt. Nach mehreren Stunden wurde mit einigen Tropfen der Digitoninlösung geprüft, ob alles Cholesterin ausgefällt war. War dies der Fall, so wurde das

[1]) A. Windaus, Über die quantitative Bestimmung des Cholesterins und der Cholesterinester in einigen normalen und pathologischen Nieren. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 110, 1910.

Digitonincholesterid auf einem Porzellan-Goochtiegel abfiltriert, mit Alkohol und Äther gut gewaschen, sodann bei 100° konstant getrocknet. Aus der Menge des Additionsproduktes (A) von Cholesterin und Digitonin läßt sich die Menge des Cholesterins berechnen nach der Formel:

$$C = A \cdot 0{,}2431.$$

Die Anwendung dieser exakten Methode liefert sehr übereinstimmende Resultate. Nach einer von Windaus angegebenen Methode läßt sich das teure Digitonin für weitere Bestimmungen rein zurückgewinnen. Die Details der Rückgewinnung sind in der erwähnten Arbeit Windaus' enthalten.

Da wir uns für unsere Bestimmungen eine genügende Menge des derzeit im Handel nicht zu erhaltenden Digitonins nicht beschaffen konnten, hat uns A. Windaus ein Quantum Digitonin zur Verfügung gestellt, wofür ihm an dieser Stelle der Dank ausgesprochen sei.

Nachdem wir auf die beschriebene Weise freies Cholesterin im Rückenmark bestimmt hatten, unternahmen wir in mehreren Fällen Stichproben auf gebundenes (verestertes) Cholesterin. Die Probe fiel immer negativ aus. Ebensowenig wie im Gehirn, sind analog im Rückenmark keine Cholesterinester enthalten, sondern nur freies Cholesterin.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, geben die Cholesterinbestimmungen in den Präparaten 5 bis 11 und 13 bis 16 im Vergleich mit den Bestimmungen anderer Substanzen die am wenigsten voneinander differierenden Werte. Es mag dies vielleicht auch darauf beruhen, daß die Cholesterinbestimmung im Hinblick auf den Bestimmungsmodus der anderen Substanzen die zuverlässigste und exakteste Methode darstellt.

Nur Präparat 12 nimmt mit einem auffällig niederen Wert eine Ausnahmsstellung ein, jedoch bildet dieses Rückenmark auch in manch anderer Beziehung für unsere Versuchsreihe eine Ausnahme.

Nach unseren Beobachtungen beträgt der Cholesteringehalt im Rückenmarke des Menschen:

mittlerer	höchster	niedrigster Wert	
3,84%	4,26%	3,35%	des feuchten Rückenmarks,
14,66%	15,63%	13,83%	der Trockensubstanz,
21,23%	22,88%	19,95%	der Gesamtlipoide.

Nach den Untersuchungen Linnerts ist der Cholesteringehalt der grauen Hirnrinde äußerst gering, die weiße Substanz dagegen reich an Cholesterin. Ein Vergleich des Rückenmarks mit dem Gehirn in bezug auf Cholesteringehalt ist schwer möglich, weil die von Thudichum[1]) und die von Petrowski[2]) herrührenden Zahlen auf keiner so genauen Bestimmungsmethode beruhen dürften. Linnert bestimmt nur den Acetonextrakt, der ja überdies ein ungesättigtes Phosphatid enthält, das in der XIV. Mitteilung von H. Elias[3]) beschrieben wird.

Die Cholesterinwerte des Gehirns werden, sobald wir über genügende Mengen von Digitonin verfügen, in einer der nächsten Mitteilungen dieser Serie nachgetragen werden.

Ganz auffällige Differenzen würden sich gegenüber den von Falk[4]) in peripheren Nerven gefundenen Werten ergeben. Nach Falk beträgt der Cholesteringehalt markloser Nervenfasern 47 % und markhaltiger Nervenfasern 25 % des Gesamtextraktes; umgerechnet auf Trockensubstanz 6,13 % respektive 11,79 %. Nach Chevalier[5]) macht beim menschlichen Ischiadicus der Cholesteringehalt 12,22 % der Trockensubstanz aus.

Es sind aber nur auf Gesammtextrakt berechnete Zahlen für sich allein nicht zu Schlußfolgerungen zu verwerten, worauf auch Peritz[6]) hinweist. Den von Falk unternommenen Versuchen liegt überdies nur eine Extraktion mit Benzol zugrunde, welches Lösungsmittel gewiß nicht alle Lipoide aufnimmt. Bei Betrachtung der auf Gesamtextrakt gerechneten Zahlen überwiegt die Cholesterinzahl markloser Nervenfasern jene der markhaltigen, während bei Rechnung auf Trockensubstanz, die als wahrscheinlich vorauszusetzende Tatsache, daß markhaltige Nervenfasern cholesterinreicher sind als marklose, ihre Bestätigung findet.

Wir glauben, daß auch in einzelnen Abschnitten des Rückenmarks des Menschen je nach dem Mengenverhältnis

---

[1]) Thudichum, Über die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere. Tübingen 1901.

[2]) Petrowski, Zusammensetzung der grauen und weißen Substanz des Gehirns. Pflügers Arch. 7, 1873.

[3]) H. Elias, diese Zeitschr.

[4]) F. Falk, Über die chemische Zusammensetzung der peripheren Nerven. Diese Zeitschr. 13, 153.

[5]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 97.

[6]) G. Peritz, Biochemie des zentralen Nervensystems in Oppenheimers Handb. d. Biochem. des Menschen und der Tiere, 2, 2.

zwischen grauer und weißer Substanz Schwankungen in den Cholesterinwerten zu konstatieren wären; daß auch bei einem Zugrundegehen von nur grauer oder nur weißer Substanz solche Differenzen zu konstatieren sein dürften.

Die ungesättigten Phosphatide des Rückenmarks.

Aceton nimmt hauptsächlich Cholesterin auf, vielleicht aber auch ein Phosphatid in geringen Mengen. Wir extrahierten die Trockensubstanz nun zur Gewinnung der ungesättigten Phosphatide erschöpfend mit Petroläther. Wir können annehmen, dadurch dieselben in ihrer Gesamtheit gewonnen zu haben. Beim Gehirn gehen in den Petrolätherextrakt sehr geringe Mengen gesättigter Substanzen, und zwar eines Galaktosids über. Ob das auch im Rückenmark der Fall ist, haben wir diesmal nicht untersucht.

Nach vollendeter Extraktion wird in dem schon vorher samt den Siedesteinen gewogenen Kolben wieder die petrolätherische Lösung möglichst eingeengt, wobei abermals auf das Überschäumen zu achten ist; sodann wird im Thermostaten konstant getrocknet und der Rückstand gewogen.

Die in der Tabelle für ungesättigte Phosphatide angegebenen Werte wurden durch Subtraktion der Cholesterinzahlen von der Summe der vereinigten Aceton- und Petrolätherextrakte erhalten.

Durch Verwendung der Versuche 5 bis 11 und 13 bis 16 erhalten wir folgende Resultate für die ungesättigten Phosphatide im Menschenrückenmark:

mittlerer	höchster	niedrigster Wert	
12,42 %	14,84 %	9,96 %	des feuchten Rückenmarks,
47,32 %	53,03 %	42,19 %	der Trockensubstanz,
69,55 %	76,26 %	60,33 %	der Gesamtlipoide.

Bei diesen Werten sind also, wenn man die einzelnen Präparate untereinander vergleicht, schon größere Differenzen zu beobachten, die sich namentlich bei der Berechnung auf Gesamtlipoide geltend machen. (Differenzen von 76 % und 60 %!)

Solche Differenzen dürften nach unseren Erfahrungen kaum oder nur zum geringen Teil in der Methodik liegen, sondern tatsächlich auf individuellen Verschiedenheiten beruhen, und wir müssen annehmen, daß der Gehalt an ungesättigten Lipoiden beim Rückenmark innerhalb größerer, vielleicht

physiologischer Grenzen schwanken kann, als dies beim Wasser- und Cholesteringehalt zutrifft. Die Ursache solcher Schwankungen ist uns noch unbekannt.

Weil die graue Substanz für sich allein ärmer ist an ungesättigten Lipoiden als die weiße, so ist anzunehmen, daß auch im Rückenmark je nach dem Mischungsverhältnisse von grauer und weißer Substanz der Gehalt an diesen Substanzen in einzelnen Abschnitten schwankt.

Beim Vergleich mit dem Gehirn und den peripheren Nerven begegnen wir Schwierigkeiten, da wir keine präziseren Angaben über den Gehalt an ungesättigten Phosphatiden in jedem Fall vorfinden. Doch geht daraus sicher hervor, daß das Rückenmark das Gesamthirn in seinem Gehalt an diesen ungesättigten Substanzen übertrifft, in dem nach Linnert Acetonextrakt und Petrolätherextrakt zusammen nur 43,43 % der Trockensubstanz beträgt; noch mehr überragt es natürlich die graue Hirnrinde. Es übertrifft aber auch Brücke und verlängertes Mark, mit dem es in seiner Zusammensetzung noch die meiste Ähnlichkeit aufweist. Am nächsten kommt das Rückenmark in seinem Besitz an ungesättigten Phosphatiden der weißen Substanz des Gehirns.

Die Differenzen zwischen dem Rückenmark des Menschen und des Rindes ergeben sich ebenfalls durch Vergleich von Aceton- und Petrolätherextrakt. Nachdem sich der mittlere Wert dieser Bestimmung beim Menschen mit 62 bis 63 % berechnet, beim Rinde aber über 74 % der Trockensubstanz beträgt, so ist der Gehalt des Rinderrückenmarkes an Cholesterin und ungesättigten Phosphatiden ein größerer als beim Menschen.

Auch beim Vergleich mit den peripheren Nerven lassen sich bei Betracht der Gesamtextraktmenge und des Cholesteringehaltes Differenzen erkennen. Wenn auch wegen der nur mit Benzol durchgeführten Extraktion die Zahlen Falks[1]) für die Gesamtlipoide zu niedrig sind, so ist, wenn die Gesamtextraktmenge für marklose Nervenfasern 11,51 % und für markhaltige Nervenfasern 46,59 % beträgt (= abzüglich Cholesterin 34 bis 35 %), doch anzunehmen, daß das Rückenmark reicher ist an ungesättigten Phosphatiden als die peripheren Nerven.

---

[1]) l. c.

Chevalier[1]) fand in der organischen Trockensubstanz des menschlichen Nervus ischiadicus 33,57 % „Lecithin". Dem gegenüber müssen wir bemerken, daß nach den bisherigen Untersuchungen am Menschenhirn, die von S. Fränkel und seinen Mitarbeitern vorgenommen wurden, Lecithin noch nie nachgewiesen werden konnte. Es wäre nun eine sehr auffällige Tatsache, wenn im peripheren Nerven eine Substanz in solchen Mengen vorkommen sollte, die im Zentralnervensystem gar nicht vorhanden ist. Dieses „Lecithin" stellt wahrscheinlich einen Komplex von ungesättigten Phosphatiden dar.

Demnach bildet das Rückenmark den an ungesättigten Phosphatiden reichsten Anteil des gesamten Nervensystems.

Es besitzt also das Rückenmark eine relativ große Menge von Substanzen, die durch wichtige chemische und physikalische Eigenschaften ausgezeichnet sind, einen auffallend hohen Calorienwert besitzen und ungemein sauerstoffgierig sind. Nachdem diese Substanzen vermöge ihrer letztgenannten Eigenschaften mit der Gewebeatmung[2]) in Beziehung stehen, so müssen sich im Rückenmark zahlreiche Reduktions- und Oxydationsprozesse abspielen, muß der Sauerstoff-Stoffwechsel sehr lebhaft vor sich gehen. Tatsächlich sprechen mannigfache Untersuchungen dafür, daß im Rückenmark solche Oxydations- und Reduktionsvorgänge stattfinden, daß daselbst Sauerstoffdepots vorhanden sein müssen, die den Sauerstoff in chemischer Bindung enthalten.[3]) Aus den Versuchen Wintersteins geht hervor, daß der Gaswechsel des Rückenmarkes sehr groß ist; das normal isolierte Rückenmark des Frosches ist, wenn man die verschiedenen Angaben über den Wintergaswechsel der Frösche zugrunde legt, mindestens 2 bis 3mal so groß auf die Gewichtseinheit bezogen, wie der Gesamtgaswechsel.

Unsere nächste Aufgabe wäre nun, zu untersuchen, welche von den im Gehirn vorgefundenen Phosphatiden des Petrol-

---

[1]) Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 9. 97.

[2]) S. Fränkel und L. Dimitz, Gewebeatmung durch Intermediärkörper. Wiener klin. Wochenschr. 1909.

[3]) Verworn, Die Vorgänge in den Elementen des Nervensystems. Zeitschr. f. allgem. Physiol. 6, 1906. — H. v. Baeyer, Zur Kenntnis des Stoffwechsels in den nervösen Zentren. Zeitschr. f. allgem. Physiol. 1, 1902. — Winterstein, Zeitschr. f. allgem. Physiol. 6 und Centralbl. f. Physiol. 21, 1907.

ätherextraktes sich auch im Rückenmark finden. Wir sind mit der Charakterisierung der Rückenmarksphosphatide beschäftigt und haben vorläufig in geringen Mengen nur eine Substanz dargestellt, die wir trotz geringer Verschiedenheiten als „Kephalin" ansprechen dürfen.

Kephalin aus Rückenmark.

Darstellung:

Zur Darstellung des Kephalins wurde der Rückstand der Petrolätherfraktion verwendet. Es war durch die vorausgegangene Acetonextraktion Cholesterin möglichst entfernt worden. Eine sorgfältigere Befreiung von Cholesterin würde freilich durch die bereits beschriebene Digitoninfällung desselben gegeben sein. Allein es standen uns keine genügenden Mengen von Digitonin zur Verfügung.

Kocht man den Rückstand der Petrolätherfraktion mit absolutem Alkohol aus, so scheidet sich beim Erkalten der konzentrierten gelben alkoholischen Lösung neben geringen Cholesterinmengen eine weiße Substanz aus, die aber wegen ihrer geringen Menge von uns nicht weiter gereinigt und untersucht wurde.

Es wurde die Petrolätherfraktion mit Alkohol so lange ausgekocht, als derselbe in sich noch etwas aufnahm. Der noch vorhandene Rückstand wurde in Petroläther gelöst, eine Zeit stehen gelassen, dann die klare Petrolätherlösung neuerlich mit absolutem Alkohol gefällt, der Niederschlag filtriert und reichlich mit absolutem Alkohol gewaschen, sodann getrocknet.

Nachdem wir durch die reichliche Anwendung von Lösungsmitteln und oftmalige Umfällung der Substanz eine ziemlich weitgehende Reinigung zu erzielen hofften, wurde vorläufig auf eine weitere Reinigung mit Salzsäure, wie wir sie beim Hirnkephalin durchgeführt haben, verzichtet, und das so erhaltene Präparat zu den später angeführten Bestimmungen verwendet.

Eigenschaften:

Das von uns aus dem Rückenmarke isolierte Kephalin zeigt im wesentlichen dieselben Eigenschaften wie das von E. Neubauer[1]) aus Gehirn dargestellte Kephalin.

---

[1]) E. Neubauer, Über Kephalin. Diese Zeitschr. 21, 321, 1909.

Es stellt ein amorphes Pulver dar, das hellgelb gefärbt ist. Es zieht an der Luft rasch Wasser an, verklebt dann zu Klumpen und dunkelt nach, während es im Vakuum unverändert bleibt.

Das Kephalin löste sich leicht in Äther und Petroläther und konnte daraus mit Alkohol in weißlichen Flocken gefällt werden. Die petrolätherische Lösung ist je nach Konzentration mehr oder weniger stark gelb gefärbt und zeigt im auffallenden Licht eine grüne Fluorescenz.

In Wasser zerrieben bildet es eine schmutzig-gelbe kolloidale Lösung und läßt sich daraus mit Salzsäure in großen weißen Flocken ausfällen. Aceton fällt eine wässerige Lösung nicht, doch war das Kephalin mit NaCl aus seiner wässerigen Lösung aussalzbar.

Die v. Baeyersche Reaktion fiel stark positiv aus, was durch den ungesättigten Charakter der Substanz bedingt ist. Aus dem gleichen Grunde vermag es auch Methylenblau zu seiner Leukoverbindung zu reduzieren.

Die Bestimmung des Schmelzpunktes ergab einen auffallend hohen Wert: die Substanz begann bei ca. 150° sich zu bräunen und schmolz rasch zwischen 204 und 207° zu einer klar durchsichtigen dunkelbraunen Masse. Dagegen betrug der höchste von E. Neubauer beobachtete Schmelzpunkt 185°.

Analysenresultate:

Die weitere Untersuchung ergab einen außerordentlichen Aschereichtum des Präparates:

0,2056 g Substanz gaben 0,0421 g Asche, d. i. 20,47%
und 9,55% phosphorsäurefrei gerechnete Asche.

Der Gehalt an Asche ist also noch größer als bei dem aschereichsten Präparat C von Neubauers Kephalinreinpräparaten, das über Glaubersalz gereinigt war und dieses in das organische Solvens mitriß.

Die Phosphorbestimmung, nach Liebig ausgeführt und nach Woy gefällt, ergab:

0,2185 g Substanz lieferten 0,0374 g $Mg_2P_2O_7$, d. i. 4,77% P.

Die Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab:

0,2170 g Substanz lieferten ein N-Volumen von 4,6 ccm bei
22° und 736 mm B, d. i. 2,37% N.

Daraus berechnet sich das Verhältnis von P : N = 1 : 0,91,
also fast wie 1 : 1.

Die Verbrennung der Substanz lieferte folgendes Resultat:

0,2056 g Substanz gaben 0,3810 g CO_2, d. i. 50,54% C,
0,1467 g H_2O, d. i. 8,00% H.

Diese Werte auf aschefreie Substanz gerechnet:

C = 55,88 % P = 5,27 %
H = 8,85 % N = 2,62 %

Der hohe P-Gehalt nähert sich am meisten den von Thudichum gefundenen Resultaten.

Es ist somit auch das Kephalin aus Rückenmark wie jenes aus Gehirn durch bloße Umfällung unmöglich zu reinigen, indem es die Salze immer wieder in die verschiedenen Lösungsmittel mitreißt.

Wichtig ist das Verhältnis von P:N = 1:0,91, also nahezu wie 1:1. Wir können diesen Resultaten entnehmen, daß auch das aus dem Rückenmark dargestellte Kephalinpräparat ein Monoaminomonophosphatid ist, wie das aus dem Gehirn des Menschen (P:N = 1:1,07) und auch das von Falk aus der Nervensubstanz (P:N = 1:0,98) dargestellte Kephalin.

Ob das dem Rückenmark entstammende Kephalin, wie von vornherein zu erwarten steht, identisch ist mit jenem aus dem Gehirn, dazu müssen erst Untersuchungen an einem mit Salzsäure gereinigten Präparat gemacht werden. Wir haben daher den Rest unserer Substanz nach den Angaben E. Neubauers[1]) mit Salzsäure gereinigt. Leider reichten die bisher dargestellten Mengen nicht zu mehreren Analysen. Wir werden dieselben nachtragen.

Bei Beobachtung des Schmelzpunktes sahen wir, daß diese so gereinigte Substanz sich zwischen 90 und 100° bräunte und bei 175° schmolz. Der Schmelzpunkt unseres Präparates stimmte also mit jenem des aschefreien und reinsten Präparates, das E. Neubauer beschrieb, vollkommen überein.

Bei unserem zur Analyse verwendeten Präparat scheint, dem Aschegehalt nach zu schließen, ein Salz des Kephalins vorgelegen zu sein.

Was die Mengenverhältnisse des Kephalins betrifft, so haben wir die Bestimmung noch nicht quantitativ durchgeführt; allein es läßt sich schon schätzungsweise behaupten, daß auch im Rückenmark das Kephalin einen großen Teil des Petrolätherextraktes ausmacht, also ein großer Teil der ungesättigten Phosphatide Kephalin ist.

---

[1]) l. c.

Die gesättigten Lipoide des Rückenmarks.

Die Bestimmung der gesättigten Lipoide gestaltet sich am einfachsten. Die Rückstände der Hülse werden nacheinander mit siedendem Benzol und absolutem Alkohol im Soxhlet so lange extrahiert, als diese Lösungsmittel noch etwas aufnehmen. Das Einengen durch Destillation vollzieht sich glatt ohne Überschäumen. Der Kolben mit den Rückständen wird abermals im Thermostaten konstant getrocknet, sodann gewogen.

Mit den beiden genannten Lösungsmitteln werden im Gehirn Sphingogalaktoside, Sphingomyelin, Phosphosulfatide und andere Körper, die noch weniger bekannt sind, extrahiert. Verdünnter Alkohol vermag dann noch sehr geringe Mengen von Lipoiden herauszuholen, wir haben dies beim Rückenmark unterlassen. Wir haben diesmal auch noch nicht einzelne der gesättigten Lipoide isoliert, um ihre eventuelle Identität mit entsprechenden Gehirnlipoiden festzustellen, sondern haben uns nur zur Aufgabe gestellt, die Menge der gesamten gesättigten Lipoide des Rückenmarks zu bestimmen.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Zahlen der Benzolfraktion meist höher sind als jene der Extraktionen mit absolutem Alkohol. Die einzelnen Werte, miteinander verglichen, zeigen starke Differenzen. Damit unterliegen auch die Werte für die gesamten Lipoide großen Schwankungen. Für die Beurteilung dieser Tatsachen ist folgendes zu beachten:

Es wurde früher erwähnt, daß der Petroläther eventuell einen allerdings sehr geringen Teil gesättigter Lipoide bei der Extraktion mitnimmt, weshalb die Werte für die Alkohol- und Benzolextraktion etwas zu niedrig ausfallen können. Da aber die aus dem Rückenmark gewonnenen gesättigten Lipoide sehr geringe Gewichtsmengen (wenige Zehntelgramme) ausmachen, so geben schon kleine Differenzen bei Berechnung auf Verhältniszahlen einen großen Ausschlag.

Es ist aber nicht anzunehmen, daß der Petroläther einen größeren Teil ungesättigter Lipoide im Rückenmark zurückläßt, der dann durch Benzol herausgeholt wird.

Durch die der Technik anhaftenden Fehler sind die Schwankungen der Werte jedoch nur zum geringen Teil erklärt. Es gilt hier vielmehr dasselbe, was wir schon bei den ungesättigten

Phosphatiden erwähnten. Der Gehalt des Rückenmarks an gesättigten Lipoiden ist eben verschieden bei verschiedenen Individuen. Worauf diese Schwankungen beruhen, wovon sie abhängig sind, muß weiteren Beobachtungen vorbehalten bleiben.

Auch diesen Substanzen gegenüber ist bei der Beurteilung von durch die Lipoidanalyse gewonnenen Werten Vorsicht geboten und sind derzeit nur auffällig hohe Differenzen zu Schlußfolgerungen verwertbar.

Die gerechneten Mittelwerte stellen sich zu den gefundenen Maximal- und Minimalzahlen folgendermaßen:

mittlerer %	niedrigster %	höchster Wert %	
1,50	0,49	3,32	gerechnet auf das feuchte Rückenmark,
5,14	1,79	13,85	gerechnet auf Trockensubstanz,
8,49	2,56	19,73	„ „ Gesamtlipoide.

Vergleichen wir diese Zahlen mit den von Linnert beim Gehirn gefundenen Werten, so stehen sie hinter diesem Wert meist zurück, oft sehr weit zurück. Das Rückenmark ist im Vergleich mit Gehirn ärmer an gesättigten Lipoiden.

Im Vergleich zum Rinderrückenmark ergeben sich bei diesen Substanzen keine besonderen Differenzen.

Es gehen die niedrigen Werte der gesättigten Lipoide mit höheren Werten für die ungesättigten Körper ziemlich parallel einher, ebenso umgekehrt. Es scheint, als ob im Rückenmark eine gewisse Wechselbeziehung zwischen diesen beiden Lipoidgruppen bestände.

Wie schon erwähnt, haben wir derzeit die Isolierung einzelner gesättigter Substanzen aus ihren Fraktionen unterlassen, jedoch wurde das Rückenmark bereits von anderen auf solche Körper untersucht.

Zuelzer[1]) fand in einem Falle von Meningitis, daß in der weißen Substanz des Rückenmarkes an „Protagon" 5,84% der feuchten und 22,13% der trockenen Substanz enthalten sind. Nach Untersuchungen desselben Autors beträgt der Protagongehalt der weißen Rückenmarkssubstanz beim Ochsen 8,14 bis 8,96% der feuchten, resp. 22,75 bis 25,02% der trockenen Sub-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 225, 1899.

stanz, und der Protagongehalt der Cauda equina beim Ochsen 3,64 %, resp. 12,46 %. Angenommen, daß der Gehalt der weißen Nervensubstanz an gesättigten Lipoiden überhaupt bedeutend größer ist als jener der grauen, so sind die angegebenen Werte dennoch auffallend hoch.

Derart auffällig hohe Werte für den Protagongehalt finden wir auch in den interessanten Untersuchungen Nolls[1]).

Soweit eine Kontrolle im Vergleich zu den von uns gefundenen Zahlen für gesättigte Lipoide schätzungsweise möglich ist, scheinen die Werte für den Protagongehalt zu hoch zu sein. Es erklärt sich dies wohl aus den großen Schwierigkeiten, die sich einer Reindarstellung dieser Körper der Protagongruppe entgegenstellen, und aus den großen Fehlerquellen, die sich bei einer anderen Methodik zur quantitativen Bestimmung des „Protagons" ergeben.

W. Koch[2]) bestimmte den Gehalt des Rückenmarks an organischem Schwefel mit 1,029 ‰. Es ist anzunehmen, daß Schwefel unter den Lipoiden nur den gesättigten zukommt, doch lassen sich dieselben aus der angegebenen Zahl nicht berechnen.

Die Gesamtlipoide des Rückenmarks.

Die Werte der Gesamtlipoide berechnen sich aus unserer Versuchsreihe folgendermaßen:

mittlerer %	niedrigster %	höchster Wert %	
18,22	15,11	19,93	des feuchten Rückenmarkes,
68,08	64,03	73,84	der Trockensubstanz.

Daraus ersieht man, daß auch die Werte für die gesamten Lipoide des Rückenmarkes größeren Schwankungen unterliegen. Freilich ist durch die unterlassene Extraktion mit verdünntem Alkohol eine kleine Menge von Lipoiden im Rückenmark zurückgeblieben, jedoch ist diese Menge sicher so gering, daß sie kaum zu einem Ausgleich der Werte oder einer Erhöhung derselben wesentlich beitragen würde. Man kann diesen Fehler ruhig vernachlässigen.

---

[1]) Noll, Über die quantitativen Beziehungen des Protagons zum Nervenmark. Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 370.

[2]) Koch, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 135, 1902; Arch. of neurology 3, 1907.

Präparat 12 ist bei der Rechnung des Mittelwertes überhaupt nicht, Präparat 4 bei der Berechnung auf Trockensubstanz nicht einbezogen.

Bei Annahme eines mittleren Wertes von $18^1/_4\,^0/_0$ auf das gesamte Rückenmark und $68\,^0/_0$ auf die Trockensubstanz sind Schwankungen, die sich um $1^1/_2\,^0/_0$ resp. $3\,^0/_0$ nach aufwärts oder abwärts bewegen, nichts Ungewöhnliches, vielleicht als physiologisch zu betrachten. Die Werte von 15,11 des Gesamtrückenmarkes und $64{,}03\,^0/_0$ der Trockensubstanz sind ja schon als auffällig tief, der Wert von $73{,}84\,^0/_0$ als ungewöhnlich hoch zu bezeichnen. Jedenfalls wird man auch für diese Substanzen bei differenzialanalytischen Untersuchungen nur grobe Differenzen verwerten dürfen.

Vergleichen wir diese Zahlen mit den beim Gehirn gefundenen Resultaten, so finden wir auch hier, wie bei der Wasserbestimmung, eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Lipoidgehalt von Brücke und verlängertem Mark, sowohl was den Durchschnittswert als auch was die Schwankungen betrifft. Dabei ist aber Brücke und verlängertes Mark ärmer an ungesättigten und reicher an gesättigten Lipoiden. Das Gesamthirn und insbesondere die graue Rinde, aber auch die peripheren Nerven scheinen lipoidärmer zu sein.

Das Menschenrückenmark ist, und zwar bei Gleichstellung der gesättigten Lipoidsubstanzen, lipoidärmer als das Rinderrückenmark.

Jedenfalls stellt die Medulla spinalis nach den bisher bekannten Untersuchungen den lipoidreichsten Anteil des gesamten Nervensystems dar. Das Rückenmark nähert sich in seiner chemischen Konstitution dem Aufbau der Brücke und des verlängerten Markes und ist ganz verschieden von der Zusammensetzung des Gehirns. Aus den Vergleichen geht weiter hervor, daß diese Unterschiede nicht allein auf den proportionellen Verschiedenheiten in der Mischung von grauer und weißer Substanz beruhen, sondern daß graue und weiße Substanz für sich allein im Gehirn und Rückenmark einigermaßen different zusammengesetzt sind. Daraus würde sich ergeben, daß das System der Rückenmarksbahnen eine andere chemische Zusammensetzung besitzt als jenes der Gehirnbahnen.

Besonders auffällig ist der Reichtum an Gesamtlipoiden beim Präparat 4 (Meningitis purulenta), die Lipoidarmut des Präparates 6 (Meningitis tuberculosa) und 15 (Haemorrhagia cerebri).

Präparat 12 (Nephritis) bildet in jeder Beziehung eine Ausnahme, es weist einen abnorm geringen Gehalt an Gesamtlipoiden bei Vermehrung der gesättigten und Verminderung der ungesättigten Substanzen und des Cholesterins auf.

Welchen Veränderungen der Lipoidgehalt des Rückenmarkes in pathologischen Fällen unterliegt, läßt sich aus verschiedenen Versuchen bis zu einem gewissen Grad erkennen.

F. W. Mott und Wakelin Barratt[1]) fanden, daß die degenerierte Hälfte eines Rückenmarkes reicher an Wasser und an „Fett" sei, dagegen ärmer an Phosphor als die andere Hälfte. In einem Falle von cerebraler Hemiplegie war der Phosphorgehalt auf beiden Seiten herabgesetzt, der Ätherextrakt der degenerierten Seite stellte eine dunkelgelbe Masse dar, in der sich kaum Krystalle bildeten, der der anderen Seite war hellgelb und lieferte Krystalle.

F. W. Mott und W. D. Halliburton[2]) haben, nachdem Noll[3]) gezeigt hatte, daß bei der Wallerschen Degeneration der peripheren Nerven „Protagon" aus denselben verschwindet, die Abnahme des Phosphorgehaltes im degenerierenden Nervus ischiadicus einer Katze bestimmt. Nach diesen Beobachtungen soll der Phosphorgehalt vom 8. Tage an allmählich schwinden, am 29. Tage gänzlich verschwunden gewesen sein, während mit Eintritt der Regeneration der Phosphorgehalt zur normalen Höhe wieder ansteigen soll. Es beruht nach Ansicht der Autoren die Degeneration der Markscheiden auf einem Ersatz der phosphorhaltigen durch phosphorfreie „Fette", die in Marchis Reaktion mit Osmiumsäure schwarz gefärbt werden. Die Reaktion mit Osmiumsäure ist aber eigentlich keine Reaktion auf Fette, sondern bildet nur ein sicheres Kennzeichen für Substanzen mit doppelten Bedingungen. Es mag nun sein, daß es bei der Wallerschen Degeneration zu einer Auf-

[1]) Beobachtungen zur Chemie der Nervendegeneration. Journ. of Physiol. 24, 3 bis 5.

[2]) Die Chemie der Nervendegeneration. Phil. Trans. Roy. Soc., London, 194, 437 bis 466. — Journ. of. Physiol. 26, 25 bis 26.

[3]) l. c.

schwemmung derartiger Substanzen mit doppelten Bindungen kommt, oder aber, daß die in der Nervensubstanz vorhandenen ungesättigten Phosphatide gespalten werden, wobei es zu einer Ausschwemmung der phosphorhaltigen Spaltungsprodukte kommt, während die ungesättigten Säurebestandteile im Nerven zurückbleiben.

Wir möchten diesen Versuchen eine Beobachtung anreihen, die wir gelegentlich der chemischen Untersuchungen des Rückenmarkspräparates von einer ziemlich akut verlaufenden multiplen Sklerose machten. Dieses Präparat war etwas wasserärmer als ein normales Rückenmark; Aceton- und Petrolätherextrakt waren im Vergleich zur Gesamtmenge der gesättigten Phosphatide sehr gering. Wir werden untersuchen, ob diese Beobachtung in weiteren Fällen ihre Bestätigung findet.

Ob es sich hierbei um einen intermediären Stoffwechselvorgang handelt, der zwischen gesättigten und ungesättigten Substanzen vor sich geht, oder ob bei Zerfall der letzteren bloß eine Anschwemmung von gesättigten Lipoiden stattfindet, läßt sich nicht entscheiden. Auch ist es uns nicht möglich, für einen solchen intermediären Stoffwechselvorgang den chemischen Verlauf theoretisch zu konstruieren.

Jener Teil des Rückenmarkes, der nach den vorgenommenen Extraktionen zurückbleibt, enthält noch einen minimalen Anteil von Lipoiden, wahrscheinlich aus den gesättigten Phosphosulfatiden der Protagongruppe bestehend; hauptsächlich aber die von Halliburton beschriebenen Albuminstoffe.

Resumé.

Das Rückenmark besteht hauptsächlich aus Wasser, im Mittel ca. 74 %, in ca. 18 % aus Lipoiden und in den restlichen 8 % wahrscheinlich hauptsächlich aus den von Halliburton beschriebenen Albuminstoffen.

Es bildet mit Brücke und verlängertem Mark den lipoidreichsten Anteil des gesamten Nervensystems.

Die Zusammensetzung des Rückenmarkes ist jedoch bei verschiedenen Individuen keineswegs eine konstante, sondern mannigfachen Schwankungen unterworfen, die besonders auffällig bei den ungesättigten und gesättigten Lipoiden hervortreten. Es sind daher bei Differentialuntersuchungen nur

größere Abstände von den normalen Mittelwerten als pathologisch zu betrachten.

Das im Rückenmark enthaltene Wasser ist der Hauptsache nach Quellungswasser des Organes. Der Wassergehalt nimmt mit dem Wachstum des Menschen ab, und ist in einzelnen Abschnitten des Rückenmarkes von den Mengenverhältnissen der weißen und grauen Substanz abhängig.

Das feuchte Rückenmark enthält Cholesterin im Durchschnitt etwas weniger als 4 %, und zwar nur in freiem Zustande. Der Gehalt an Cholesterin bei verschiedenen Individuen scheint im Gegensatz zu den anderen Bestandteilen ziemlich konstant zu sein.

Die ungesättigten Phosphatide betragen ungefähr 12 % des feuchten Rückenmarkes. Ihre Menge ist aber bei verschiedenen Individuen gröberen Schwankungen unterworfen, die mit niedrigeren oder höheren Werten der gesättigten Lipoide ziemlich parallel verlaufen.

Das Rückenmark bildet das an ungesättigten Lipoiden reichste Teilstück des gesamten Nervensystems.

Einen großen Teil der ungesättigten Phosphatide macht ein Monoaminomonophosphatid aus, das mit dem Kephalin des Menschenhirnes identisch zu sein scheint.

Cholesterin und Kephalin als Bestandteile des Rückenmarkes sind festgestellt.

Die gesättigten Lipoide des Rückenmarkes betragen im Mittel $1^1/_2$ %. Ihre Menge unterliegt groben individuellen Schwankungen.

Es hat den Anschein, als ob zwischen diesen Substanzen und den ungesättigten Phosphatiden eine gewisse Wechselbeziehung herrscht, besonders in pathologischen Fällen. Ob dieser Wechselbeziehung ein intermediärer Stoffwechselvorgang zugrunde liegt oder bloß ein Zerfall von ungesättigten Lipoiden und eine damit verbundene Anreicherung an gesättigten Substanzen, läßt sich nicht entscheiden.

Vergleiche von Gehirn, Rückenmark und peripheren Nerven weisen darauf hin, daß eine gewisse Einheitlichkeit im chemischen Aufbau vorhanden ist, was die Natur der Bestandteile betrifft. Die Mengenverhältnisse sind aber sehr verschieden, besonders bei grauer und weißer Substanz.

Die chemische Zusammensetzung einzelner Abschnitte des Nervensystems ist also auch je nach den Mischungsverhältnissen von grauer und weißer Substanz verschieden. Wahrscheinlich ist aber auch graue und weiße Substanz für sich allein, je nachdem, welchem Anteil des nervösen Systems sie angehören, in ihrem chemischen Aufbau gewissen Verschiedenheiten unterworfen.

Tabelle I.

Die gesamten Lipoide.

Nr. des Präparates	Wassergehalt %	Trockensubstanz %	Gesamtlipoide % gerechnet auf		Bemerkung
			feuchtes Rückenmark	Trockensubstanz	
1	70,86	29,14	19,86	68,26	Mann, 42 J., Delirium tremens
2	70,73	29,27	19,77	67,49	Mann, 35 J., Lungentuberkulose
3	73,84	26,16	17,58	68,09	Frau, 60 J., Kystoma ovarii
4	73,07	26,93	19,93	73,84	Frau, 26 J., Meningitis purulenta
5	72,74	27,26	18,97	69,66	Mann, 49 J., Lungentuberkulose, mittelgroß, mager
6	72,52	27,48	17,88	65,05	Frau, 45 J., Meningitis tuberculosa, groß, mittelstark
7	72,19	27,81	18,27	65,69	Mann, 49 J., Titium cordis, mittelgroß, stark
8	73,35	26,65	18,53	69,60	Frau, 51 J., Lungentuberkulose, klein, mager
9	73,79	26,21	18,01	68,50	Frau, 63 J., Hirnblutung, mittelgroß, mager
10	72,04	27,96	19,50	69,74	Mann, 18 J., Lungentuberkulose, mittelgroß, mittelstark
11	74,52	25,48	17,35	68,19	Frau, 23 J., Puerperal process, klein, mager
12	73,69	26,31	16,80	63,85	Frau, 69 J., Nephritis, klein, mager
13	76,05	23,95	16,81	70,21	Frau, 16 J., Lungentuberkulose. groß, mager
14	74,54	25,46	17,45	68,59	Mann, 33 J., Pneumonie, groß, stark
15	76,37	23,63	15,11	64,03	Frau, 60 J., Hirnblutung, klein, stark
16	74,49	25,51	18,03	69,25	Frau, 77 J., Hirnblutung, klein, mager

Mit den von uns angestellten Untersuchungen wollten wir die physiologischen Grenzwerte des Wasser- und Lipoidgehaltes feststellen. Wir wollten damit eine Grundlage schaffen, um weitere Untersuchungen an pathologischen Fällen vornehmen zu können. Unsere weiteren Aufgaben werden darin bestehen, einzelne Bestandteile der Lipoidgruppen zu identifizieren, quantitativ zu bestimmen und ihre chemischen, physikalischen und physiologischen Eigenschaften zu studieren. Dabei werden wir

naturgemäß trachten müssen, die Methodik der Untersuchung zu erweitern und zu präzisieren.

Die Behauptung Verworns[1]), daß derartige physiologisch-chemische Untersuchungen über die Zusammensetzung der zentralen Nervenmassen für die Erforschung von Stoffwechselvorgängen in den nervösen Zentren von zweifelhaftem Werte sind, besteht wohl nicht zu Recht.

Tabelle II.
(Gerechnet auf das feuchte Rückenmark.)

Nr. des Präparates	Acetonextrakt %	Petrolätherextrakt %	Gesättigte Lipoide %		
			Summe	Extrakt d. Benzols	Extrakt des absoluten Alkohols
1	4,66	12,28	0,93	0,40	0,53
2	3,15	15,38	1,25	0,81	0,44
3	3,45	13,43	0,70	0,14	0,56
4	3,17	14,01	2,76	1,95	0,81
	Cholesterin %	Ungesättigte Phosphatide %			
5	4,26	13,61	1,50	0,59	0,51
6	3,92	12,34	1,61	0,68	0,93
7	4,16	13,04	1,00	0,23	0,77
8	4,02	13,32	1,18	0,47	0,71
9	3,76	13,73	0,52	0,44	0,08
10	4,17	14,84	0,49	0,30	0,19
11	3,76	10,90	2,69	1,95	0,74
12	3,39	9,73	3,69	2,99	0,70
13	3,35	10,14	3,22	2,95	0,37
14	3,82	12,26	1,38	0,88	0,50
15	3,46	9,96	1,69	1,02	0,67
16	3,60	12,50	1,92	1,14	0,78

Ist durch genaue chemische Untersuchungen eine Grundlage geschaffen, so wird diese „chemische Anatomie“ des Nervensystems der neurologischen Forschung gewiß eine wertvolle und notwendige Ergänzung bilden. Wie wir durch unsere Untersuchungen Einblick in den Sauerstoff-Stoffwechsel erlangten, werden wir gewiß auch für andere intermediäre Stoffwechselvorgänge Kenntnisse gewinnen. Hoffentlich wird es dann auch möglich sein, die Farben- und Fällungsreaktionen des mikroskopischen Bildes präzis zu diagnostizieren!

[1]) l. c.

Tabelle III.
(Gerechnet auf Trockensubstanz.)

Nr. des Präparates	Aceton-extrakt %	Petroläther-extrakt %	Gesättigte Lipoide %		
			Summe	Extrakt d. Benzols	Extrakt des absoluten Alkohols
1	16,02	49,01	3,23	1,40	1,83
2	10,75	52,49	4,25	2,75	1,50
3	13,21	51,39	3,49	0,55	2,94
4	11,73	51,88	10,23	7,22	3,01
	Cholesterin %	Ungesättigte Phosphatide %			
5	15,63	50,00	4,03	2,16	1,87
6	14,27	44,89	5,89	2,49	3,40
7	14,96	46,91	3,82	1,03	2,79
8	15,07	50,01	4,52	1,78	2,74
9	14,33	52,19	1,98	1,67	0,31
10	14,92	53,03	1,79	1,10	0,69
11	14,77	42,81	10,61	7,66	2,95
12	12,87	36,96	14,02	11,37	2,65
13	14,01	42,35	13,85	12,31	1,54
14	15,03	48,15	5,41	3,45	1,96
15	14,64	42,19	7,20	4,36	2,84
16	13,83	48,04	7,38	4,39	2,99

Tabelle IV.
(Gerechnet auf Gesamtlipoide.)

Nr. des Präparates	Aceton-extrakt %	Petroläther-extrakt %	Gesättigte Lipoide %		
			Summe	Extrakt d. Benzols	Extrakt des absoluten Alkohols
1	23,44	71,88	4,69	2,01	2,68
2	15,92	77,76	6,29	4,07	2,22
3	19,40	75,48	5,15	0,81	4,34
4	15,89	70,26	13,84	9,77	4,07
	Cholesterin %	Ungesättigte Phosphatide %			
5	22,47	71,76	5,80	3,11	2,69
6	21,93	69,01	9,05	3,82	5,23
7	22,77	71,42	5,80	1,56	4,24
8	21,67	71,93	6,41	2,56	3,85
9	20,92	76,26	2,87	2,43	0,44
10	21,40	76,05	2,56	1,58	0,98
11	21,67	62,81	15,51	11,24	4,27
12	20,17	57,89	21,96	17,80	4,16
13	19,95	60,33	19,73	17,54	2,19
14	21,91	70,21	7,88	5,03	2,85
15	22,88	65,91	11,24	6,81	4,43
16	19,97	69,36	10,66	6,34	4,32

Über Lipoide.

Von

Sigmund Fränkel.

XIV. Mitteilung.

Über Leukopoliin.

Von

Herbert Elias.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 18. August 1910.)

In dieser Mitteilung wollen wir über ein ungesättigtes Phosphatid aus dem Menschenhirn berichten, das einen völlig neuen Typus in der Reihe dieser Körper in bezug auf seinen basischen Anteil, in bezug auf die Bindung seiner Phosphorsäure und in bezug auf seinen Kohlenhydratkern darstellt. Es ist das erstemal, daß ein Glukuronsäurederivat als Bestandteil eines Phosphatides des tierischen Organismus gefunden wurde.

Bei der Ausarbeitung unserer Methode der fraktionierten Gehirnextraktion (Mitteilung VI dieser Serie[1]) obwaltete vorzüglich die Absicht, vor allem aus den Gehirnsubstanzen die große Menge von Cholesterin herauszuholen, die sonst innig mit den übrigen extrahierbaren Gehirnstoffen sich amalgamierend, der Reindarstellung derselben unüberwindliche Schwierigkeiten bereitet. Erst nach Entfernung des Cholesterins gewinnen wir durch Petrolätherextraktion die ungesättigten, durch Benzol- und Alkoholextraktion die gesättigten Substanzen. Wir haben schon früher bei Angabe dieses Verfahrens gezeigt, daß durch Aceton das Cholesterin von den ungesättigten Phosphatiden

[1]) Diese Zeitschr. 19, 254, 1909.

nicht ganz streng zu scheiden ist, und daß besonders ein Teil der Phosphatide schon mit dem Cholesterin in den Acetonextrakt wandert. Es hat auch Erlandsen[1]) ein im Aceton lösliches Phosphatid im Myocard beobachtet. Auch in anderen Mitteilungen aus unserem Institut wurde die Darstellung von Phosphatiden aus dem Acetonextrakt gemeldet.

So hat Bolaffio[2]) in unserem Institut (I. Mitteilung) aus dem Acetonextrakt des Hühnereidotters ein Phosphatid, und zwar wahrscheinlich ein Octaminomonophosphatid isoliert (es war nicht genügend reine Substanz von Bolaffio gewonnen worden, um Kontrollanalysen durchzuführen), ferner hat Pari (IV. Mitteilung[3]) aus dem Acetonextrakt des Rinderpankreas das Vesalthin dargestellt.

Was die Phosphatide des Gehirns betrifft, so haben wir selbst ganz kurz schon früher[4]) die durch alkoholische Chlorcadmiumlösung fällbaren acetonlöslichen Phosphatide beschrieben, von denen der kleinere Teil in Benzol unlöslich ist, aus 95 $^0/_0$igem Alkohol umkrystalisiert sich als weißes Pulver darstellen läßt, das undeutlich krystallisiert bei 155° langsam erweicht und unscharf zwischen 208° und 212° schmilzt. Der größere Teil der durch Chlorcadmium gefällten Portion ist in Benzol löslich und wird aus der Benzollösung mit absolutem Alkohol als undeutlich krystallisierter, stark lichtbrechender Körper gefällt, der nach vorhergehender Bräunung zwischen 215 und 217° schmilzt.

Merkwürdig ist es, daß Thudichum bei seinen umfassenden Untersuchungen diesen Körper übersehen hat. Das hängt wohl mit der von ihm angewandten Methodik zusammen, denn bei seinem Vorgehen, dem die meisten Nachuntersucher folgten, mußte diese Substanz als Cd-Verbindung mit den von Thudichum als Lecithin angesprochenen Körpern gefällt werden.

Als Linnert (Mitteilung XI)[5]) in seiner Arbeit die quantitativen Verhältnisse der einzelnen Gehirnfraktionen in der weißen Substanz, in der Rinde, in der Brücke usw. feststellte, ergaben sich neben anderen interessanten Befunden ganz auffällige

[1]) Zeitschrift für physiol. Chem. 51, 94, 1907.
[2]) Diese Zeitschr. 9, 45, 1908.
[3]) Diese Zeitschr. 17, 68, 1909.
[4]) Diese Zeitschr. 19, 254, 1909.
[5]) Diese Zeitschr. 26, 44, 1910.

Differenzen in der Menge des Acetonextraktes zwischen grauer und weißer Substanz, die eine genauere Untersuchung besonders mit Rücksicht auf die im Acetonextrakt enthaltenen Phosphatide erforderten.

Bei dem eingehenden Studium dieser Verhältnisse ließ sich ein ungesättigtes Pentaminomonophosphatid von beträchtlicher Molekulargröße zunächst in seiner additiven Verbindung mit Chlorcadmium isolieren (wir bleiben bemüht es auch rein zu isolieren und darzustellen), das aber in der grauen und weißen Substanz in ziemlich gleicher Menge (siehe im experimentellen Teil) vorhanden ist, so daß die Differenzen des Acetonextraktes aus grauer und weißer Substanz des Gehirnes auf seinen Cholesteringehalt zurückzuführen sind. Später, wenn uns mehr Digitonin zur Verfügung stehen wird, soll dies nach der genauen Methode von Windaus[1]) zahlenmäßig festgestellt werden.

Aus den Analysen der Cl_2Cd-Verbindung ließ sich die Formel

$$C_{374}H_{720}N_{10}P_2O_{74}CdCl_4$$

berechnen, aus der sich ergibt, daß sich zu je 2 Molekülen des freien Phosphatids 1 Cl_2Cd und 2 HCl addieren, oder was uns beim Studium der Spaltungsprodukte wahrscheinlicher erschien, daß es sich um ein Dekaaminodiphosphatid handelt, das 2 Moleküle Salzsäure und 1 Molekül $CdCl_2$ addiert.

Schon dieses Zahlenverhältnis zwischen P und N ist bemerkenswert, denn bisher ist nur ein Phosphatidmolekül beschrieben worden, das an Stickstoff reicher gewesen wäre, und zwar das von Bolaffio aus diesem Laboratorium beschriebene, das er neben dem Neottin aus dem Acetonextrakt des Hühnereidotters isoliert hat und bei dem das Verhältnis wahrscheinlich $N : P = 8 : 1$ ist. Ein zweites Phosphatid, das unserer Substanz an N-Gehalt nur um ein Weniges nachsteht, ist das Tetraminomonophosphatid, das Thudichum in der Galle gefunden hat.

Es ist ferner von großem Interesse, daß unsere Substanz keine einzige Methylgruppe am Stickstoff enthält, so daß keine Base aus der Cholingruppe und überhaupt keine methylierte Base in dem Körper zu erwarten ist, ein Verhalten, das wir bis nun nur in der gesättigten Reihe beobachten konnten.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 65, H. 2, 1910.

Ein deutliche Orcinreaktion und Phloroglucinreaktion ließ ebenso wie der große O-Reichtum eine Kohlenhydratgruppe vermuten.

Die Substanz ist optisch aktiv und dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

Die gereinigte, getrocknete, fein pulverisierte Cadmiumverbindung ist fast vollkommen weiß, mit einem leichten Stich ins Gelbliche.

Bei der Schmelzpunktsbestimmung bräunt sich die Verbindung nur ein ganz klein wenig bei 170°, sintert dann etwas und schmilzt zwischen 205 und 210° unscharf unter Zersetzung.

Es ergaben sich für die Cadmiumverbindung folgende Löslichkeitsverhältnisse: Sie ist löslich in kaltem Benzol, Amylalkohol, Chloroform, kaum in Petroläther, noch weniger in Äther, gut in Xylol, die heiß konzentrierte Lösung in Xylol erstarrt beim Erkalten gelatinös; in kaltem absolutem Alkohol ist sie nicht gut löslich, in siedendem Alkohol sehr leicht löslich. Aus siedendem Alkohol umkrystallisiert, erstarrt der Körper in schönen, margueritähnlichen, nicht doppelbrechenden Krystallen, die sich zunächst wie ein blendend weißer Staub zu Boden senken, später beim Erkalten auch an den Wänden des Gefäßes niederschlagen.

Beim Stehen unter absolutem Alkohol quellen die Krystalle zu Stärkekorn ähnlichen Formen, und zwar geht diese Quellung so weit, daß man nach zweitägigem Stehen unter Alkohol diese Veränderung auch makroskopisch an dem schleimig gelatinösen Wandbelag erkennen kann. Dieses Phänomen zeigt sich auch in einem gut geschlossenen Gefäß mit eingeriebenem Stöpsel. Nach destillierendem Kochen mit Benzol erscheinen diese Rosettenformen wieder besonders deutlich. Es hat den Anschein, als ob die aus heißem Alkohol krystallisierten Sterne in der Kälte Alkohol aufnehmen und so verquellen.

Die Substanz ist nach ihren Reaktionen ein ungesättigtes, schwefelfreies Phosphatid.

Da wir feststellen konnten, daß die absolute Menge dieses Körpers in gleichen Gewichtsteilen grauer und weißer Substanz ungefähr gleich ist, nannten wir ihn Leukopoliin.

Experimenteller Teil.

1. Darstellung.

Der Acetonextrakt, aus 50 Menschenhirnen (53 kg Gehirn) gewonnen, wird in 2 Portionen verarbeitet.

1. Portion. Der Acetonextrakt wird in großen Kolben in nicht zu viel siedendem absolutem Alkohol gelöst und mit Chlorcadmium in $10^0/_0$iger alkoholischer Lösung gefällt, bis sich in einer abgekühlten Probe kein Niederschlag mehr bildet. Dann wird die heiße Flüssigkeit in große Bechergläser umgegossen und dort zum Erstarren gebracht. Nachdem sich über Nacht der Krystallbrei vollkommen ausgeschieden hat, wird er tags darauf abgenutscht und endlich in der Handpresse im Koliertuch ausgepreßt. Der fast trockene Rückstand, der neben den großen Cholesterinmassen verhältnismäßig nur wenig Cadmiumphosphatid enthält, wird jetzt in großen Soxhletapparaten durch Ätherextraktion vom Cholesterin befreit, bis der durchlaufende Äther keine Cholesterinreaktion mehr gibt.

Der Soxhletrückstand wird mehrmals aus absolutem Alkohol umkrystallisiert, einmal mit Benzol destillierend gekocht, dann heiß in benzolischer Lösung mit absolutem Alkohol gefällt (nach Abkühlung erstarrt nämlich der Körper in Benzol zu einer gelatinösen Masse und läßt sich nicht mehr gut mit absolutem Alkohol fällen) und endlich wieder mehrmals aus siedendem absolutem Alkohol umkrystallisiert. Nachdem der Körper im ganzen 7 mal umkrystallisiert war und auf diese Weise einen konstanten Schmelzpunkt erreicht hatte, wird er analysiert. Präparat A.

Die 2. Portion wurde ebenso verarbeitet, nur genügte es bei dieser etwas kleineren Portion, den Körper 5 mal umzukrystallisieren, um ihn analysenrein zu erhalten. Präparat B.

Da, wie wir einleitend gesagt, Linnert beobachtet hat, daß der Acetonextrakt der weißen Substanz an Menge bedeutend den der grauen Substanz übertrifft, so vermuteten wir, daß das neu dargestellte Phosphatid vielleicht den größten Teil der Acetonfraktion der Gehirnrinde ausmache, eventuell auch nur in der grauen Substanz vorkomme.

Um also die Mengenverhältnisse dieses Phosphatids im Rindengrau und in der weißen Substanz zu bestimmen, wurden

aus 2 Hirnen erwachsener Menschen 179,7 g Hirnrinde und 213,4 g weißer Substanz mit dem Skalpell auf das sorgfältigste heraus präpariert und gleich in einen großen Überschuß von Aceton geworfen und getrennt verarbeitet. Von dem durch den Wassergehalt des Gehirnes wässerig gewordenen kalten Acetonextrakt wird nach einem Tag abfiltriert, der Rückstand abgepreßt, der etwas trübe laufende Preßsaft filtriert und zu dem übrigen wässerigen Acetonextrakt hinzugefügt.

Der wässerige Acetonextrakt der weißen Substanz erschien stärker angefärbt als der der grauen. Das Filtrat der grauen Substanz ist aber leicht trübe, während die weiße Substanz ein vollkommen klares Filtrat ergab, was sich wohl aus der histologischen Beschaffenheit der beiden Gewebe sehr gut erklären läßt.

Um das Wasser aus den wässerigen Acetonextrakten zu entfernen, werden sie tunlichst eingeengt, soweit es eben die leicht schäumende Flüssigkeit gestattet. Dann werden sie in einem Schütteltrichter mit Äther geschüttelt.

Die ätherischen Lösungen werden abdestilliert, mit heißem Aceton aufgenommen und zu den entsprechenden, inzwischen getrennt in zwei Soxhletapparaten auf die oben beschriebene Art gewonnenen heißen Acetonextrakten (der Hauptmasse) hinzugefügt.

179,7 g grauer Substanz gaben 6,4 g getrockneten Acetonextrakt, während 213,4 g weiße Substanz 24,25 g Acetonextrakt gaben. Die beiden getrockneten Acetonextrakte zeigten schon makroskopisch ganz verschiedenes Aussehen, indem sich der so sehr verschiedene Cholesteringehalt in Farbe und Struktur deutlich ausdrückte.

Der voluminöse, getrocknete Acetonextrakt der weißen Substanz war leicht gelblich, in großen Plättchen krystallisiert, während die geringe Menge des getrockneten Acetonextraktes der grauen Substanz durch eine dunklere Farbe und mehr körniges Aussehen sich auszeichnete.

Diese beiden Acetonfraktionen wurden getrennt auf die oben beschriebene Art aufgearbeitet, und zwar in wenig heißem absolutem Alkohol aufgenommen, im Überschuß mit alkoholischem Chlorcadmium gefällt und nach dem Erkalten im Soxhletapparat mit Äther vom Cholesterin befreit.

In der Rindensubstanz ergaben 6,5 g Acetonextrakt, 2,17 g rohes Chlorcadmiumphosphatid oder 2,09 g freies Rohphosphatid, in der weißen Substanz 24,25 g Acetonextrakt, 4,98 g von unserem Körper, abzüglich des Chlors und des Cadmiums 4,80 g. Durch den Schmelzpunkt wurden die mehrmals umkrystallisierten Cadmiumverbindungen in der grauen und in der weißen Substanz, die Präparate C und D, als Leukopoliin identifiziert.

2. Analysen.

Die zu analysierende Substanz wurde stets in der von Hans H. Meyer angegebenen Trockenpfeife bei 100° im absoluten Vakuum getrocknet.

C- und H-Bestimmung. 0,1903 g Präparat A gaben bei der Verbrennung 0,4576 g CO_2 und 0,1781 g H_2O, das heißt, 65,58 % C und 10,47 % H.

0,2222 g Präparat A ergaben bei der Verbrennung 0,5337 g CO_2 und 0,2121 g H_2O, entsprechend 65,51 % C und 10,68 % H.

0,1774 g Präparat B geben 0,4261 g CO_2 und 0,1639 g H_2O, was 65,51 % C und 10,34 % H entspricht.

N-Bestimmung nach Dumas. 0,5935 g Präparat A ergaben bei T 28° C und B 742 mm 10,5 ccm N, entsprechend 1,958 % N.

0,3503 g Präparat B gaben bei T 23° C, B 739 mm 6,20 ccm N, gleich 1,98 % N.

0,5054 g Präparat A ergaben bei T 26° C, B 744 mm 9,4 ccm N, entsprechend 2,0784 % N.

Phosphorbestimmung. Es wurde nach der Methode von Pringsheim[1]) verascht, dann nach der Methode von Woy die Analyse fortgeführt und schließlich der Phosphor als Magnesiumpyrophosphat auf dem Platin-Iridium-Goochtiegel gewogen.

0,2643 g Präparat A ergaben 0,0105 g Magnesiumpyrophosphat, was 1,106 % P entspricht.

0,2303 g Präparat B gaben 0,0084 g Magnesiumpyrophosphat gleich 1,016 % P.

0,3619 g Präparat B ergaben 0,0126 g Magnesiumpyrophosphat, gleich 0,9697 % P.

Eine Phosphorbestimmung wurde mit der Neumann-Veraschung vorgenommen; da ergab das Präparat A einen Phosphorgehalt von 1,05 % P.

Chlorbestimmungen. Es wurde nach Pringsheim[1]) mit Natriumsuperoxyd verascht, mit Natriumbisulfitlösung und Schwefelsäure reduziert und das mit salpetersaurem Silber gefällte Chlorsilber auf dem Goochtiegel gesammelt und gewogen.

0,2255 g Präparat B gaben 0,0189 g AgCl, gleich 2,073 % Cl.

0,2949 g Präparat B gaben 0,0245 g AgCl, gleich 2,055 % Cl.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 4267, 1908.

Bei den Cadmiumbestimmungen wurde nach der von Nogueira[1]) aus diesem Institut publizierten Methode verfahren.

0,1221 g Präparat A ergab 0,0037 g Cadmiumsulfat gleich 1,634 % Cadmium.

0,3443 g Präparat A ergaben 0,0107 g Cadmiumsulfat, entsprechend 1,676 % Cadmium.

0,2569 g Präparat B ergaben 0,0077 g Cadmiumsulfat, entsprechend 1,616 % Cadmium.

Die Schwefelbestimmung. Es wurde nach der Methode Pringsheim verascht und der Schwefel als Bariumsulfat gewogen. Es ergaben sich unberechenbar kleine Mengen Schwefel.

Tabelle (in %).

Elemente	Analysen von:		Gefundene Durchschnittswerte	Berechnet für die Formel
	Präparat A	Präparat B		$C_{374}H_{720}N_{10}P_2CdCl_4O_{74}$
C	65,58 65,51	65,61	65,53	65,53
H	10,47 10,68	10,34	10,50	10,51
N	1,96 2,08	1,98	2,00	2,04
P	1,05	1,016 0,97	1,06	0,905
Cd	1,634 1,676	1,616	1,641	1,641
Cl		2,073 2,055	2,06	2,071
O	—	—	17,209	17,28

3. Jodzahl.

Nach der Hübelschen Methode wurden 0,4691 g Präparat A in 10 ccm Chloroform gelöst und mit 25 ccm Jodlösung versetzt und dann 18 Stunden im Dunkeln gelassen. Tags darauf wurde in üblicher Weise rücktitriert. Es wurden 0,26844 g Jod verbraucht, was einer Jodzahl von 57,24 entspricht.

Für die cadmiumfreie Verbindung aber ergibt sich eine höhere Jodzahl, denn in 0,4691 g Cadmiumverbindung sind nur 0,4521 g von dem freien Phosphatid enthalten, die ja allein 0,26844 g Jod verbraucht haben, für das freie Phosphatid ergibt sich eine Jodzahl von 59,37.

4. Methyl am N-Bestimmung.

In dem Apparat von Herzig-Meyer wurde zuerst die Methoxylbestimmung und dann die Methyl-am-N-Bestimmung durchgeführt. Es wurden 0,3877 g Präparat A verwendet; diese lieferten im Glycerinbad überhaupt kein Jodsilber, im Sandbad 0,0617 g Jodsilber. Entsprechend 0,006 % Methyl. Mit anderen Worten, diese Substanz besitzt keine Methylgruppe.

5. Polarisation.

Um das Drehungsvermögen der Substanz zu prüfen, wurde sie in Xylol und Benzol gelöst. Es ließ sich aber nur in ganz verdünnten

[1]) Diese Zeitschr. 16, 373, 1909.

Lösungen arbeiten, denn bei einer nur etwas höheren Konzentration zeigte die Lösung das Tyndallsche Phänomen und ließ nicht mehr genug Licht durch, um eine sichere Ablesung zu gestatten. Andererseits war aber das Drehungsvermögen dieser stark verdünnten Lösungen naturgemäß so gering, daß kleine Ablesungsfehler große Ausschläge geben mußten. Die Polarisation wurde mit dem großen Landolt-Lippichschen Apparat vorgenommen.

0,0109 g Präparat B wurden bei einer Temperatur von 15° C in 15 ccm Benzol gelöst. Die Flüssigkeit wurde stark erwärmt, um die ganze Substanz in Lösung zu bringen und andererseits gleichmäßige Resultate zu erhalten und eventuelle durch Multirotation sich ergebende Fehler zu vermeiden. Die Ebene des polarisierten Lichtes wurde durch ein 1 dm langes, mit der Benzollösung gefülltes Rohr um 0,12° nach links abgelenkt, d. h.

$$\alpha_D^{15} = -166 \cdot 66^{\circ}.$$

Das phosphorfreie Leukopoliin.

Es wurde mit 5 g Substanz der Versuch gemacht, in siedender, absolut alkoholischer Lösung durch einen Schwefelwasserstoffstrom das Cadmium aus seiner additiven Verbindung als Schwefelcadmium herauszufällen.

Tatsächlich gab das Filtrat, nachdem mehrere Stunden H_2S durchgeleitet worden war, mit Schwefelammon keinen gelben Niederschlag mehr; darauf wurde das Ganze auf der Dampfschlange vom Schwefelcadmium abfiltriert, und aus der wasserklaren filtrierten Flüssigkeit krystallisierten in großer Menge kleine, stärkekornähnliche Krystalle aus, die morphologisch sich durch nichts von denen der Cadmiumverbindung untersehieden. Die blendend weißen Krystalle wurden gleich nochmals abgenutscht und umkrystallisiert, ließen auf dem glühenden Platinspatel in der Flamme keinerlei Rückstand zurück und erwiesen sich als chlorfrei. Mit Alkohol verbrannt, ließen sich im darüber gehaltenen, benetzten Becherglas (Beilsteinsche Probe) keine Chlordämpfe mit salpetersaurem Silber nachweisen. Auch die Kupferprobe blieb negativ. Der Schmelzpunkt betrug 195°. Die Substanz erwies sich als phosphorfrei. Wie wir bereits beim Sahidin beobachtet, spaltet sich die als Cadmiumverbindung gewonnene Substanz unter der Einwirkung der bei der Einleitung von Schwefelwasserstoff freiwerdenden Salzsäure in einen phosphorfreien und phosphorhaltigen Anteil.

Zusammenfassung.

Aus dem Acetonextrakt des Menschenhirns läßt sich ein durch Krystallisation, Schmelzpunkt, konstante Zusammensetzung scharf charakterisiertes ungesättigtes Dekaaminodiphosphatid oder Pentaminomonophosphatid isolieren, das in der grauen und weißen Substanz ziemlich gleichmäßig verteilt ist, das auf 1 resp. 2 Moleküle 1 Molekül Cl_2Cd und 2 Moleküle HCl addiert, das keine Methylgruppe enthält, sich aber durch einen Kohlenhydratsäurekern auszeichnet.

Über die Spaltlinge des Leukopoliin soll in einer weiteren Mitteilung berichtet werden.

Über ein Verfahren der Serumtrocknung.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Sigmund Fränkel und Aladar Elfer.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 18. August 1910.)

Bei experimentellen Arbeiten mit Serum und Organbrei über Stoffe, die in organischen Solvenzien löslich sind und insbesondere über solche, die Phosphatide oder Cholesterinverbindungen sind, ergeben sich große Schwierigkeiten bei der Eintrocknung des feuchten Ausgangsmateriales. Da das Serum der meisten Tiere zwischen 90,2 bis 92,7% Wasser enthält und dieses Wasser zum großen Teil Quellungswasser ist, so ist es klar, daß die Entfernung dieses Wassers auf große Schwierigkeiten stößt. In der Technik verwendet man zur Darstellung des sog. Serumalbumins ein Trockenverfahren auf Hürden, wobei man das Serum auf flache Schalen gießt und strömender warmer Luft aussetzt. Es ist selbstverständlich, daß ein solches Verfahren für wissenschaftliche Zwecke unbrauchbar ist, da es ausgeschlossen ist, ein solches Serum steril zu trocknen und dabei auch mannigfache Veränderungen durch die Luft, durch die Mikroorganismen und die Einwirkung der Temperatur vor sich gehen. Dies ist auch der Grund, weshalb käufliches Serumalbumin einen so unangenehmen Geruch zeigt und der Lösung erhebliche Schwierigkeiten entgegensetzt. War nun ein solch technisches Verfahren für eine Serumtrocknung ausgeschlossen, so hatte man nur zwischen zwei Methoden zu wählen, dem Trocknen von Serum im Vakuum oder im Faustschen Apparat, der mit rasch strömender Luft arbeitet. Beide Verfahren erwiesen sich für unsere Zwecke nicht brauchbar, aber sehr

kostspielig. Man erhält nach keinem dieser Verfahren ein unverändertes, wasserfreies Präparat. Zur Trockne gebrachte Substanz enthält noch immer reichlich Quellungswasser und läßt sich nicht zu einem feinen Pulver verarbeiten.

Wir haben es daher vorgezogen, das Serumwasser überhaupt nicht zu entfernen, sondern es an eine andere Substanz zu binden und auf diese Weise, da wir gar keine Temperaturerhöhung benützen, ein bei gewöhnlicher Temperatur völlig trockenes Pulver aus dem Serum herzustellen. Unser Verfahren beruht auf dem einfachen Kunstgriff, daß wir dem Serum so viel sorgfältig geglühtes Glaubersalz zusetzen, als notwendig ist, um die gesamte Wassermenge als Krystallwasser an das Glaubersalz zu binden. Der Sicherheit wegen, da sich das wasserfreie Glaubersalz während des Vorganges leicht mit dem krystallisierten, wasserhaltigen Glaubersalz überziehen kann, setzen wir 10% mehr Glaubersalz zu, als der Berechnung entspricht. Der Vorgang gestaltet sich nun folgendermaßen: Man ermittelt oder berechnet den Wassergehalt des zu verarbeitenden Serums. Hat man z. B. 1 kg Rinderserum, so enthält dieses 913,64 g Wasser. 142 Teile geglühtes Glaubersalz vermögen 180 Teile Wasser zu binden. Um das ganze Wasser von 1 kg Serum zu binden wären nun theoretisch 610 g geglühtes Glaubersalz notwendig, wir setzen aber ca. 670 g pro Liter Rinderserum zu. Das Glaubersalz wird in kleinen Partien unter stetem Reiben mit einem Pistill in einer geräumigen Porzellanreibschale oder in einem Blechtopf eingetragen. Man erhält einen steifen Brei, der in längstens 1 bis 2 Stunden zu einer festen Krystallmasse erstarrt, die man nun im Stahlmörser auf das feinste pulvern kann. Diese Masse kann man bequem mit verschiedenen wasserfreien Extraktionsmitteln im Soxhletapparat extrahieren. Die Resultate, die wir bis jetzt erhalten haben, sind vorzügliche. Passend gewählte Lösungsmittel ergaben sofort krystallisierbare Substanzen. Das Verfahren selbst läßt sich ohne weiteres auf die Trocknung von Gewebebrei übertragen. Wir werden über die Resultate der Extraktion so vorbereiteten Serums in nächster Zeit ausführlich berichten und die notwendigen Lösungsmittel und ihre Reihenfolge bekannt geben.

Zur Kenntnis der Rindensubstanz der Nebennieren.

Von

K. Kawashima (Tokio).

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(*Eingegangen am 19. August 1910.*)

Bekanntlich setzt sich die Nebenniere der höheren Organismen zusammen aus zwei genetisch und histologisch verschiedenen Geweben, der Rinde und dem Mark. So erschien es plausibel, als auch die physiologische Forschung den beiden Abteilungen des Organes getrennte Funktionen zuerkannte, indem man namentlich die Bildung des Adrenalins, dieses wichtigen Sekretionsproduktes der Nebenniere, dem Mark zuschrieb. Was die Rinde anlangt, so fand Jacoby[1]) in der Rinde der Pferde-Nebenniere eine gut wirksame Aldehydase, die dem Mark fehlt. Ferner fanden wir in der Literatur Hinweise auf das Vorkommen von Adrenalin oder ihm nahestehender Substanzen in der Rinde [(Poll[2]), Oliver und Schäfer[3]), Salvioli und Pezzolini[4]), Comessati[5])]. Nun hat aber die neuere Zeit einige wertvolle physiologische und chemische Prüfungsmethoden geliefert, so daß man nunmehr auch untersuchen kann, ob Mark und Rinde sich in bezug auf den Adrenalingehalt nur quantitativ unterscheiden oder ob wirklich die Rinde absolut frei von Adrenalin ist. Es ergaben sich also folgende Aufgaben: 1. zu untersuchen, ob die Rinde Adrenalin zerstört, um den Unterschied von Rinde und Mark

[1]) M. Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30.

[2]) Poll, Berl. klin. Wochenschr. 1909.

[3]) Oliver und Schäfer, zitiert nach Lubarschs Ergebnisse 1903

[4]) Salvioli und Pezzolini, do.

[5]) Comessati, Münch. med. Wochenschr. 1908.

der Nebenniere zu erklären; 2. die Angaben über das Vorkommen von Adrenalin in der Rinde nachzuprüfen und zu ergänzen.

I.

Zu derartigen Untersuchungen ist die Nebenniere des Pferdes besonders geeignet, weil sie wegen ihrer Größe und anatomischen Gliederung eine scharfe Trennung der beiden Gewebsarten gestattet. Es gelingt ziemlich leicht, Rinde und Mark der Pferde-Nebenniere durch Farbe und Konsistenz gut voneinander zu unterscheiden. Oft fanden wir in der Rinde umschriebene Knoten, bei denen es sich unseres Erachtens um eingesprengte Marksubstanz mit Kapsel aus Rindensubstanz handelte. Diese Knoten wurden natürlich beim Bereiten des Materials entfernt. Kohn[1]) hat darauf hingewiesen, daß das Adrenalin nach dem Tode durch Diffusion in die Rinde gelangen kann. Um diese Möglichkeit, soweit es anging, auszuschließen, verwandten wir immer frische Nebennieren wenige Stunden nach dem Schlachten des Pferdes.

Besonders günstig liegen die Verhältnisse bei solchen Tieren, bei denen Rinde und Mark getrennte Organe darstellen. So hat Swale-Vincent an Selachiern experimentiert. Jedoch lassen sich natürlich die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf das Verhalten bei den Säugern übertragen.

Die Rinden- und Markextrakte wurden folgendermaßen bereitet: Die Rinden- und Marksubstanz der frischen Nebennieren der Pferde werden vorsichtig getrennt; jede einzelne Portion wurde für sich zerhackt und zerrieben. Dann wurde der Organbrei abgewogen und mit dem gleichen Teil physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Die Gemische blieben einige Stunden bei Zimmertemperatur (oder 24 Stunden im Eisschrank) und wurden dann durch Gaze filtriert. Die Filtrate wurden mit oder ohne Zusatz einer geringen Mengen von Toluol im Eisschrank aufbewahrt. Auf solche Weise wurden die Extrakte öfters zum Versuche frisch bereitet. So bereitete Rinden- und Markextrakte waren graurötlich gefärbt und getrübt; sie zeigten eine schwach alkalische Reaktion.

Es wurde je ein Teil von Rinden- und Markextrakt enteiweißt, indem man zu je 4 ccm desselben einige Tropfen ver-

---

[1]) Kohn, zitiert nach Gierke, Lubarschs Ergebnisse 1904.

dünnter Essigsäure zusetzte und kochte, hierauf die Flüssigkeit mit 1 ccm konzentrierter Kochsalzlösung versetzte und abfiltrierte. An den klaren Filtraten wurde die Fränkel-Allers[1])-Probe vorgenommen, die als empfindliche und charakteristische Methode zum Adrenalinnachweise anerkannt wird. Diese Probe beruht darauf, daß Jodsäure resp. Kaliumbijodat und verdünnte Phosphorsäure beim Anwärmen mit Adrenalinlösung sich so umsetzen, daß eine rosarote bis eosinrote Färbung eintritt, indem dabei anscheinend eine Bindung von Jod an die Adrenalin-Moleküle stattfindet. Zur Anstellung der Reaktion versetzte ich klare, farblose Filtrate der Extrakte mit dem gleichen Volumen von $^{n}/_{1000}$-Kaliumbijodatlösung und einigen Tropfen verdünnter Phosphorsäure und erwärmte bis zum beginnenden Sieden. Es trat folgende Reaktion ein:

Verdünnung	Filtrate von Markextrakt	Filtrate von Rindenextrakt
ohne	+++ (tief-rosarot od. eosinrot)	++
1:2	+++	+
1:5	+++	+
1:10	++ (rosarot)	$\pm\pm$
1:15	+ (schwach violettrot)	$\pm$
1:20	+	$\pm$
1:25	+	—
1:30	+	
1:40	+	
1:50	$\pm\pm$ (Spur violettrot)	
1:60	$\pm$ (Nuance von violett)	
1:70	$\pm$	
1:80	—	

Es fiel also bei beiden Extrakten die Fränkel-Allers-Probe positiv aus. Es mußten zwar natürlich noch andere Methoden zum Adrenalinnachweise angewandt werden, doch konnte man schon annehmen, daß der Rindenextrakt im etwa 8fach (in einem anderen Falle 10fach) geringeren Mengenverhältnis als Markextrakt Adrenalin enthielt.

Sodann brachte ich verschiedene Mengen von beiden Extrakten in Flaschen oder Reagensgläsern verschiedene Stunden (12 bis 24^{h}) lang in den Brutschrank (37°), um zu erfahren, inwieweit der Adrenalingehalt der frisch bereiteten Extrakte sich ändert. Darauf wurden sie enteiweißt und nach Fränkel-Allers geprüft. Es zeigte sich, daß das Adrenalin in den

[1]) Fränkel-Allers, diese Zeitschr. 1909.

Extrakten durch 12- oder 24stündigen Aufenthalt bei 37° jedenfalls nicht zunahm.

Nach diesen beiden Vorversuchen machte ich die folgenden Untersuchungen, um zu erfahren, ob das Adrenalin durch fermentative Einflüsse der Nebenniere, hauptsächlich der Rindenextrakte, zerstört wird:

a) Rindenextrakt 4 ccm + 50%iges Adrenalin[1]) 1 ccm wurden in ein Reagenglas eingetragen und 12h bei 37° gehalten; darauf mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure und 1 ccm konzentrierter Kochsalzlösung enteiweißt.

b) Rindenextrakt 4 ccm und 50%iges Adrenalin 1 ccm wurden in je ein einzelnes Reagensglas getan und 12 Stunden bei einer Temperatur von 37° gehalten. Beide Flüssigkeiten wurden erst vor dem Kochen zum Enteiweißen in obiger Weise vereinigt.

c) Rindenextrakt 4 ccm + 0,85%iges NaCl-Lösung 1 ccm in ein Reagensglas für 12h bei 37°; darauf enteiweißt wie vorher.

d) Markextrakt 4 ccm + 50%iges Adrenalin 1 ccm in ein Reagensglas für 12h bei 37°; darauf enteiweißt wie vorher.

e) Markextrakt 4 ccm und 50%iges Adrenalin 1 ccm in je ein Reagensglas für 12h bei 37°; darauf beide Flüssigkeiten vereinigt und enteiweißt wie vorher.

f) Markextrakt 4 ccm + 0,85%ige NaCl-Lösung, 1 ccm in ein Reagensglas für 12h bei 37°; darauf enteiweißt wie vorher.

Die an so behandelten Extrakten angestellte Fränkel-Allers-Probe ergab folgendes:

Verdünnung	a	b	c	d	e	f
ohne	+	+	+	+++	+++	+++
1:2	+	+	±±	+++	+++	++
1:5	±±	±±	±	++	++	+
1:10	±	±	—	+	+	+
1:15	fast —	fast —	—	+	+	±±
1:20	—	—		±±	±±	±
1:30				±	±	±
1:40				±	±	—
1:50				fast —	fast —	

Dieselben Versuche wurden wiederholt, nur mit dem Unterschied in bezug auf den Aufenthalt im Brutschrank

[1]) Dazu wurde käufliches Epirenan (Chem. Werke, vorm. Dr. H. Byk, 1000fach verdünntes, krystallisiertes Adrenalin) benutzt.

(6[h] und 24[h] bei 37°). Das Resultat blieb dasselbe. Also durch diese Versuche habe ich einen sicheren Hinweis auf das Vorkommen von Adrenalin zerstörenden Enzymen sowohl in der Rinde wie auch im Mark der Nebenniere nicht erhalten.

II.

Bereits aus dem ersten Teil der Untersuchungen geht hervor, daß das Adrenalin oder eine ihm nahestehende Substanz sich in der Rinde der Nebenniere findet, weil die Fränkel-Allers-Probe, die eine charakteristische Prüfungsmethode für das Adrenalin ist, positiv ausfällt. Mit dieser Methode hat man Rindenextrakte bisher noch nicht untersucht.

Toujan[1]) hat angegeben, daß der Rindenextrakt im Brutofen bei Körpertemperatur binnen 24 Stunden gegenüber den frisch bereiteten Auszügen an blutdrucksteigernder Wirkung zunimmt. Unser Versuch schien uns dies nicht bestätigt zu haben, wie es schon kurz erwähnt wurde und aus dem Folgenden ersichtlich ist:

Verdünnung	Rindenextrakt (24[h] im Eisschrank nach der Bereitung)	Rindenextrakt (24[h] bei 37° nach der Bereitung)
ohne	+	+
1:2	+	±±
1:5	+	±
1:10	±±	—
1:15	±	
1:20	±	
1:25	—	

Aber die Angabe Toujans bedarf noch der experimentellen Nachprüfung, da die physiologischen und chemischen Nachweismethoden sich nicht ohne weiteres identifizieren lassen.

Es sei hier noch erwähnt, daß die nach Fränkel-Allers positiv reagierende Substanz in Rinden- sowie Markextrakten beim Stehenlassen im Eisschrank mit der Zeit zugrunde geht — 27 Tage nach der Bereitung fiel die Reaktion bei dem Rindenextrakt in der Verdünnung 1:2 negativ, beim Markextrakt in der Verdünnung 1:5 undeutlich aus.

---

[1]) Toujan, zitiert nach Poll.

Tabelle.

Kaninchen	Anfangsgewicht	Gewicht vor dem Tode	Häufigkeit der Injektion	Menge der einmaligen Injektion	Zeitdauer von Materialbereitung bis Injektion	Urinmenge an einem Tage vor und nach Injektion	Dauer der Glucosurie	Höchste relative und absolute Zuckermenge an einem Tage	Dauer von erster Injektion bis zum Tode	Komplikation zur Glucosurie	Sektionsbefund mit histologischer Untersuchung
Nr. 1	3410 g	2895 g	2 mal	1mal 5 ccm	4 Tage	v.: 86 ccm n.: 220 ccm	etwa 2 Tage	0,7%—1,54 g	16 Tage	vorübergehende Hämaturie 2 Tage nach der Injektion	Keine deutliche Veränderung der Nebenniere. Circumscripte parenchymatöse Entzündung mit leichter Hyperämie der Niere.
				2mal 5 ccm	11 Tage	v.: 37 ccm n.: 390 ccm	keine Glucosurie	—		—	
Nr. 2	2795 g	2200 g	2 mal	1mal 5 ccm	1 Tag	v.: nicht gemessen n.: 90 ccm	etwa 2 Tage	0,8%—0,72 g	10 Tage	spärliche Albuminurie	do.
				2mal 5 ccm	6 Tage	nicht gemessen	keine Glucosurie	—		Diarrhöe (unabhängig von der Injektion)	
Nr. 3	3420 g	—	1 mal	5 ccm	1 Tag	v.: 100 ccm n.: 180 ccm	etwa 2 Tage	3,5%—6,3 g	2 Tage	mäßig starke Albuminurie	Keine deutliche Veränderung der Nebenniere. Ausgedehnte parenchymatöse Nephritis mit starker Hyperämie u. Kalkablagereng an den Gefäßwänden.
Nr. 4	3470 g	2850 g	2 mal	1mal 5 ccm	4 Tage	v.: 60 ccm n.: 145 ccm	etwa 2 Tage	0,3%—0,44 g	13 Tage	spärliche Albuminurie	Keine deutliche Veränderung der Nebenniere.
				2mal 3 ccm	1 Tag	v.: — n.: 96 ccm	etwa 2 Tage	0,7%—0,67 g		—	Die Nieren intakt.
Nr. 5	3060 g	—	1 mal	3 ccm	1 Tag	v.: — n.: 110 ccm	etwa 3 Tage	0,8%—0,88 g	4 Tage	—	Keine deutliche Veränderung der Nebenniere. —

Mit Rindenextrakt haben wir außer der **Fränkel-Allers**-Probe folgende Untersuchungen angestellt:

a) Erzeugung von Glucosurie: **Poll** erwähnt, daß die Einspritzung von Rindenextrakten Glucosurie hervorruft, was wir bestätigen konnten. Wir spritzten den Rindenextrakt subcutan 5 Kaninchen ein, deren Urin vorher untersucht wurde.

Wie aus der Tabelle (S. 337) ersichtlich ist, wurde also durch Injektion unserer Rindenextrakte (3 bis 5 ccm) immer, wenn die dazu gebrauchten Extrakte noch frisch waren, ungefähr 2 Tage dauernde Glucosurie (höchstens von 0,2 bis 0,8 bis 3,5$^{0}/_{0}$igem Zuckergehalt an einem Tage) hervorgerufen. Dazu trat eine vorübergehende, ganz leichte, manchmal mäßig schwere Albuminurie, oft mit Blutbeimischungen, ein.

Anatomisch ergaben sich weder Blutung noch sonst makroskopisch deutlich wahrnehmbare Veränderungen der Nebenniere; an einem Fall unter vier der histologischen Untersuchung der Niere unterzogenen Fällen konnte ich aber eine ausgedehnte parenchymatöse Entzündung mit starker Hyperämie und vereinzelter Kalkablagerung an den Gefäßwänden konstatieren, während zwei andere Fälle eine umschriebene Epitheltrübung der gewundenen Harnkanälchen mit leichter Hyperämie zeigten und ein Fall keine Besonderheiten darbot. Inwieweit diese anatomischen Veränderungen mit der Injektion der Rindenextrakte zusammenhängen, bleibe vorläufig dahingestellt.

b) Die **Vulpiansche** Reaktion wurde geprüft, die in der charakteristischen intensiven Grünfärbung bei der Einwirkung von Eisenoxydsalzen besteht. Nach der Enteiweißung des frisch bereiteten Rindenextraktes setzte man vorsichtig zum klaren Filtrat einige Tropfen von Eisenchloridlösung zu. Es trat eine grüne Färbung ein. War das Filtrat verdünnt, konnte man nur eine vorübergehende schwachgrüne Färbung nachweisen. **Poll** behauptet, daß dem Rindenextrakte diese Eisengrünreaktion mangelt. Für den von uns untersuchten Rindenextrakt der Pferde-Nebenniere gilt das jedenfalls nicht.

c) **Comessatis** Probe wurde auch angestellt, obwohl sie von **Fränkel-Allers** und **Boas**[1]) als empfindliche Prüfungsmethode nicht anerkannt wird. An unseren Rindenextrakten fiel diese Sublimatprobe negativ aus.

Nach **Comessatis** Vorschrift prüften wir seine Probe mit Adrenalin zur Kontrolle nach; aber schon bei mäßiger Verdünnung des Adrenalins

[1]) **Boas**, Centralbl. f. Physiol. 1909.

konnte man keine Reaktion nachweisen, erst durch Erhitzung des Gemisches nach Boas trat ganz schwach rötliche Färbung zutage.

d) Schließlich machte ich Ehrmannsche[1]) Versuche mit Rindenextrakten. Es ergab sich, daß sie ebenfalls eine mydriatische Wirkung beim Froschauge entfalten, wie Ehrmann und Comessati bereits nachgewiesen haben.

Nach Ehrmann ließ man vorher auf die enukliierten Froschaugen etwa 3 Minuten lang elektrisches Licht einwirken, um die Pupille zu verkleinern. Der zu untersuchende Augapfel wurde in Rindenextrakte in solchem Grade eingesenkt, daß die nach oben gerichtete Pupille höchstens durch den Extrakt befeuchtet wurde, da sonst wegen der Trübung der Flüssigkeit die Pupillenveränderung schwer nachweisbar war. Schon nach etwa 7 bis 10 Minuten trat die Mydriasis auf, die nach 30 Minuten ihren höchsten Grad erreichte, während die zur Kontrolle untersuchte Froschaugenpupille in der physiologischen Kochsalzlösung unverändert blieb.

Ich habe auch Versuche angestellt, die feststellen sollten, ob man mit den Rindenextrakten vielleicht Mäuse gegen Adrenalin immunisieren kann. Bisher habe ich aber noch keine sicheren Resultate erhalten, weil bei mehrmaliger Injektion der Rindenextrakte die Mäuse anaphylaktische Symptome zeigten.

Zusammenfassung.

1. In dem Rindenextrakte der Pferde-Nebenniere konnten wir kein Adrenalin zerstörendes Ferment nachweisen.

2. In der Rinde der Pferde-Nebenniere findet sich eine geringe Menge von Adrenalin oder einer ihm nahestehenden Substanz. Dafür sprechen positive Fränkel-Allers-Probe und Vulpians Reaktion, mydriatische Wirkung und Erzeugung von Glucosurie durch den Rindenextrakt.

---

[1]) Ehrmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 53.

Warum hemmt Natriumcyanid die Giftwirkung einer Chlornatriumlösung für das Seeigelei?

Von

Jacques Loeb und Hardolph Wasteneys.

(Aus dem Rockefeller Institut, New York.)

(Eingegangen am 31. August 1910.)

1. In früheren Arbeiten hat Loeb nachgewiesen, daß die Giftwirkung einer alkalischen Chlornatriumlösung auf die frisch befruchteten Eier von Strongylocentrotus purpuratus durch Zusatz einer Spur von Cyankalium aufgehoben werden kann.[1] Die Giftwirkung einer neutralen Chlornatriumlösung konnte bei Eiern, die bereits sich dem Blastulazustand näherten, ebenfalls durch Cyankalium aufgehoben werden;[2] aber bei frisch befruchteten Eiern von Purpuratus gelang es nicht, eine derartige Hemmung der Giftwirkung durch Cyankalium herbeizuführen.

In einer äußerst interessanten Arbeit weist nun O. Warburg[3] nach, daß die frisch befruchteten Eier von Srongylocentrotus liridus (in Neapel) durch eine Spur Natriumcyanid gegen die Giftwirkung einer Chlornatriumlösung geschützt werden. Loeb hat inzwischen dasselbe für die frisch befruchteten Eier von Arbacia in Woods Hole feststellen können. Was bedingt nun dieses verschiedene Verhalten der Eier verschiedener Seeigelarten? Warum wirkt Cyankalium bei den

---

[1] Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies. Berlin 1910. Verlag von Julius Springer. S. 118. Diese Zeitschr. 26, 279 und 289, 1910. Hier möchte ich kurz korrigieren, daß es im Titel der Arbeit S. 289 heißen muß: „auf das befruchtete (anstatt das unbefruchtete) Seeigelei". Diese Zeitschr. 2, 83, 1906.

[2] Zurzeit im Druck in dieser Zeitschr.

[3] Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 305, 1910.

Eiern von Purpuratus nur dann schützend, wenn die Chlornatriumlösung schwach alkalisch ist, während derselbe Stoff bei den Eiern von Arbacia auch in einer neutralen Lösung von NaCl entgiftend wirkt? Das dürfte wohl daran liegen, daß für die Entwicklung der Eier von Arbacia eine geringere Konzentration der OH-Ionen nötig ist, als für die Entwicklung der frisch befruchteten Eier von Purpuratus. Die letzteren erfordern unmittelbar nach der Befruchtung eine schwach alkalische Reaktion der Salzlösung, während später eine neutrale Lösung ausreicht; für die Eier von Arbacia reicht, wie Loeb neuerdings gefunden hat, von vornherein eine neutrale Reaktion für die Entwicklung aus. Dabei sind die Ausdrücke neutral und alkalisch in dem Sinne gebraucht, der in den voraufgehenden Arbeiten von Loeb definiert ist. Wir sehen also, daß für die Eier von Purpuratus und Arbacia Natrium- oder Kaliumcyanid dann imstande ist, entgiftend auf eine Chlornatriumlösung zu wirken, wenn die Konzentration der Hydroxylionen in dieser Lösung die zur Entwicklung der Eier nötige Höhe erreicht. Mit anderen Worten: Die reine Chlornatriumlösung wirkt giftig auf das tätige, d. h. sich entwickelnde Ei, ist aber weniger giftig für das Ei, dessen Entwicklung durch Hemmung der Oxydationsvorgänge unmöglich gemacht ist. Dieser Schluß wird durch die Tatsache gestützt, daß die alkalische, resp. neutrale Chlornatriumlösung für das unbefruchtete Ei viel unschädlicher ist, als für das befruchtete.[1])

2. Warburg zieht einen andern Schluß aus diesen Tatsachen, den ich am besten in seinen eigenen Worten wiedergebe:

„Wenn man die Sauerstoffatmung herunterdrückt, so wirkt eine NaCl-Lösung nicht giftig. Dies kann zwei Ursachen haben: entweder eine atmende Zelle wird durch die unbekannte schädigende Wirkung des Chlornatriums stärker affiziert als eine Zelle, deren Stoffwechsel gehemmt ist, oder die NaCl-Lösung wirkt auf die Oxydationen und mit Hilfe der Oxydationen giftig. Von diesen beiden Möglichkeiten kann ich, auf Grund von Messungen, die zweite als die richtige be-

---

[1]) Diese Zeitschr. 2, 83, 1906; 26, 279, 1910.

zeichnen. In einer reinen NaCl-Lösung sind die Oxydationen des befruchteten Eies so stark gesteigert, daß diese Steigerung allein die Giftwirkung völlig hinreichend erklärt."

Soviel wir sehen können, stützt Warburg diesen Schluß nur auf indirekte Versuche; den direkten Nachweis für seine Behauptung hat er nicht erbracht. Die Gründe für den letzteren Umstand und die Methode seiner Versuche gibt er in folgenden Worten an: „Ich habe oben mitgeteilt, daß die befruchteten Eier in einer reinen NaCl-Lösung schnell zerstört werden, und man wird fragen, wie eine exakte Messung unter solchen Umständen möglich ist. Man muß hier einen kleinen Kunstgriff benutzen, nämlich die Atmung in einer cyanidhaltigen NaCl-Lösung messen und vergleichen mit einer cyanidhaltigen Lösung, die außer NaCl noch andere Ionen in passender Menge, z. B. $CaCl_2$ und KCl enthält. Man findet dann das Verhältnis 5:1. Die NaCl-Lösung wirkt also nicht giftig, weil in ihr NaCl in das Ei hineindiffundiert oder weil andere Salze aus dem Ei austreten, sondern weil Oxydationen auf das 5fache gesteigert werden. . . . Ebenso wie nach Loeb die Giftwirkung durch Zusatz zweiwertiger Ionen beseitigt wird, finden wir die normale Oxydationsgröße, wenn wir zu der NaCl-Lösung eine geeignete Menge $CaCl_2$ zufügen." So fand Warburg eine Oxydationsgröße von normaler Größenordnung, wenn der Chlornatriumlösung $CaCl_2$ im üblichen Verhältnis zugesetzt wurde.

Gegen den von Warburg aus seinen Versuchen gezogenen Schluß lassen sich folgende Bedenken erheben. Erstens ist, wie schon erwähnt, seine Beweisführung keine direkte. Zweitens läßt sich zeigen, daß auch eine Mischung von NaCl und $CaCl_2$ (in dem üblichen Verhältnis) für das Seeigelei giftig ist und daß die Giftigkeit dieser Lösung sowohl durch Natriumcyanid wie durch Sauerstoffmangel in demselben Verhältnis gehemmt wird, wie das für die reine Chlornatriumlösung der Fall ist. Drittens hat Loeb neuerdings zeigen können, daß im allgemeinen diejenigen Stoffe, die das befruchtete Ei rascher schädigen als das unbefruchtete, auch auf das befruchtete Ei weniger schädlich wirken, wenn man die Oxydationen im letzteren durch Sauerstoffmangel oder Cyankalium, resp. Cyannatrium hemmt. Die toxischen Agenzien, deren schädliche Wirkung auf das be-

fruchtete Ei durch Sauerstoffmangel oder Natriumcyanid gehemmt wird, sind so verschieden, daß es wenig wahrscheinlich ist, daß sie alle das befruchtete Ei durch Oxydationssteigerung töten. Das soll in einer späteren Arbeit ausführlicher besprochen werden.

3. Wir haben die Behauptung Warburgs, daß die reine Chlornatriumlösung durch Oxydationssteigerung das Ei schädigt und schließlich tötet, und daß der Zusatz von $CaCl_2$ die Oxydationen auf das richtige Maß herunterdrückt, direkt, d. h. ohne Anwendung von NaCN geprüft. Als Versuchsobjekt dienten die Eier von Arbacia. Dieselben werden durch eine Chlornatriumlösung nicht so rasch geschädigt, wie das bei den von Warburg benutzten Eiern offenbar der Fall war. Wenn man Arbaciaeier 1 Stunde lang in eine Chlornatriumlösung bringt, so gehen meist nicht mehr als etwa 20% der Eier an Cytolyse zugrunde, während die übrigen 80% sich, wenn man sie in normales Seewasser zurückbringt, zu schwimmenden Larven entwickeln. Da nach Warburg in der reinen Chlornatriumlösung die Oxydationsgröße auf das 5fache gesteigert ist, so hätte eine Zerstörung von etwa 20% der Eier nur eine Verringerung der Oxydationssteigerung auf das 4fache bedingen können.

Wir verglichen nun den Sauerstoffverbrauch einer gegebenen Menge von Eiern nacheinander in Seewasser oder einer Lösung von $NaCl + KCl + CaCl_2$, und einer reinen Chlornatriumlösung nach der Winklerschen Methode.

Die Versuchsausführung gestaltete sich folgendermaßen: Eine ausreichende Menge von Eiern wurde in die Atmungsflasche gebracht, deren Volumen 324,45 ccm betrug. Die Flasche wurde im Wasserbade 30 Minuten langsam von Zeit zu Zeit rotiert, um die Eier in Suspension und die Lösung in Zirkulation zu erhalten. Dann wurde die Flasche 30 Min. lang im Wasserbade bei derselben Temperatur ruhig stehen gelassen, um den Eiern zu erlauben, sich am Boden abzusetzen. Endlich wurde mittels Wasserstoff (unter Überdruck) ein Teil der Flüssigkeit in das Analysengefäß übergetrieben.[1]) Im letzteren

---

[1]) Kontrollversuche zeigten, daß diese Methode keinen meßbaren Sauerstoffverlust bedingt.

wurde die Flüssigkeit unter Petroleum aufgefangen; dieses wurde bis auf die letzten Spuren aus dem Analysengefäß vor der Analyse ausgetrieben. Das Volumen des Analysengefäßes betrug 182,6 ccm. Um zu verhindern, daß irgend welche Eier oder sonstige suspendierte Teilchen in das Analysengefäß gelangten, war die Öffnung des Glasrohres, durch das die Flüssigkeit der Atmungsflasche in das Analysengefäß eintrat, mit Filtrierpapier verschlossen. Um ein Zerreißen des Filters infolge des Überdrucks zu verhindern, war das Filtrierpapier auf der Innenseite durch nicht zu engmaschige Seide gestützt. Wir arbeiteten so, ohne Eier bei dem Versuch zu verlieren und die Analyse durch organische Materie zu gefährden.

Dieselben Eier wurden nacheinander verschiedenen Lösungen ausgesetzt, ohne daß es nötig war, sie aus der Atmungsflasche zu entfernen. Um beispielsweise die Atmungsgröße der Eier in Seewasser und einer Chlornatriumlösung zu vergleichen, wurde erst in der geschilderten Weise der Sauerstoffkonsum in (filtriertem!) Seewasser festgestellt, dann wurde alles Seewasser bis auf eine niedrige Schicht über den am Boden liegenden Eiern durch Wasserstoff ausgetrieben; hierauf wurde die Flasche zu $^1/_3$ mit der Chlornatriumlösung gefüllt. Sobald die Eier sich wieder am Boden abgesetzt hatten, wurde die über den Eiern befindliche klare Chlornatriumlösung durch Wasserstoff ausgetrieben, wieder Chlornatriumlösung zugefügt und wieder entfernt. Dann wurde die Atmungsflasche mit der Chlornatriumlösung gefüllt und die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs in dieser Lösung durchgeführt. An diese Bestimmung schloß sich dann wieder eine Bestimmung der Atmungsgröße in Seewasser. Diese Kontrolle diente dazu, festzustellen, bis zu welchem Grade die Eier in der Chlornatriumlösung geschädigt waren. Wenn nämlich in der Chlornatriumlösung die nach Warburg zu erwartende Oxydationssteigerung nicht eintrat, so war der Einwand möglich, daß die Eier inzwischen getötet waren.

Brachte man aber die Eier hinterher wieder in Seewasser zurück, so ließ sich am Sauerstoffverbrauch feststellen, bis zu welchem Grade ein solcher Einwand berechtigt war. Die Eier wurden außerdem mikroskopisch beobachtet und ihre Entwicklung weiter verfolgt.

4. Wir wollen nun einen Versuch genauer schildern.

Frisch befruchtete Eier von Arbacia wurden in eine Mischung von 50 ccm $^{m}/_{2}$-NaCl + 0,7 ccm $^{m}/_{2}$-$CaCl_2$ + 11 ccm $^{m}/_{2}$-KCl gebracht. In einer solchen Lösung entwickeln sich die Eier von Arbacia bis zum Blastulastadium. 182,6 ccm dieser Lösung erforderten 42,2 ccm Thiosulfat, die Atmungsflasche mit einem Volumen von 324,45 ccm also 74,98 ccm Thiosulfat. 1 ccm Thiosulfat entsprach 0,0342 mg Sauerstoff. (Der Sauerstoffwert der Thiosulfatlösung wurde jeden Tag von neuem bestimmt.) Die in der Atmungsflasche befindliche Salzlösung enthielt also zu Anfang des Versuches 2,57 mg Sauerstoff.

Nachdem die Eier 1 Stunde in der vorher beschriebenen Weise bei 21,5° C in der Atmungsflasche gewesen waren, erforderten 182,6 ccm der Lösung 31,2 ccm Thiosulfat; 324,45 ccm erforderten 55,44 ccm, und der Sauerstoffgehalt der Flüssigkeit war also auf 1,90 mg gesunken. In 1 Stunde hatten also die Eier 0,67 mg Sauerstoff verbraucht.

Dann wurden die Eier zweimal in der Atmungsflasche in NaCl gewaschen und dann 1 Stunde in eine $^{21}/_{40}$ m-Lösung von NaCl gebracht. 182,2 ccm dieser Lösung erforderten 42,2 ccm Thiosulfat; die 324,45 ccm der Flüssigkeit in der Atmungsflasche enthielten also ebenfalls am Anfang des Versuches 2,57 mg Sauerstoff.

Nachdem die Eier 1 Stunde bei 21,5° in dieser Temperatur geatmet hatten, erforderten 182,6 ccm der Lösung 34,0 ccm Thiosulfat; der Sauerstoffgehalt war also in der Flüssigkeit der Atmungsflasche auf 2,08 mg gesunken, und der Sauerstoffkonsum der Eier betrug 0,49 mg.

Dann wurde die Flasche wieder mit der Mischung von NaCl + $CaCl_2$ + KCl gefüllt, und nun betrug der Sauersoffkonsum in 1 Stunde bei 21,5° C 0,50 mg.

Das Resultat wird in Tabellenform übersichtlicher.

Tabelle I.

Sauerstoffverbrauch derselben Menge frisch befruchteter Arbaciaeier in 1 Stunde bei 21,5°.

in 1. NaCl + $CaCl_2$ + KCl	2. NaCl	3. NaCl + KCl + $CaCl_2$
0,67 mg	0,49 mg	0,50 mg

Der Versuch zeigt also, daß in der Chlornatriumlösung nicht nur keine Zunahme, sondern eine Abnahme des Sauer-

stoffverbrauchs stattgefunden hat. Diese Abnahme fand ihre Erklärung in der Beobachtung der Eier: etwa 20% derselben waren partiell oder total cytolysiert. Der Rest war aber in das Zweizellenstadium gegangen, und eine im Urstadium in Seewasser gehaltene Probe der Eier zeigte, daß diese letzteren sich alle zu schwimmenden Larven entwickelten. Wir verstehen nun auch, warum im dritten Versuch in $NaCl + CaCl_2 + KCl$ der Sauerstoffkonsum niedriger blieb als im ersten Versuch: es waren schon etwa $^1/_5$ der Eier, oder vielleicht etwas mehr in der Chlornatriumlösung getötet und vielleicht einige mehr geschädigt worden. Nach dieser ausführlichen Auseinandersetzung sind die weiteren Versuche ohne weiteres verständlich. Wir vergleichen zunächst Seewasser mit der Chlornatriumlösung.

Tabelle II.

Versuchs-reihe	Temperatur	Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde in		
		Seewasser	$^5/_8$ m-NaCl	Seewasser
1	22°	0,87 mg	0,56 mg	
2	21°	0,58 „	0,45 „	0,49 mg
3	22°	0,71 „	0,53 „	0,51 „
4	23,5°	0,49 „	0,47 „	0,48 „

In Versuchsreihe 4 und den späteren Versuchen war $^m/_2$-statt $^5/_8$ m-NaCl angewendet worden. Loeb hatte nämlich inzwischen gefunden, daß eine $^m/_2$- oder genauer $^{21}/_{40}$ m-NaCl-lösung für die Eier von Arbacia isotonisch ist.

Es findet also in NaCl keine Zunahme, sondern eine Abnahme der Oxydationsgröße statt.

In der nächsten Tabelle III geben wir die Versuche wieder, die den Sauerstoffverbrauch in einer Chlornatriumlösung mit dem in einer Mischung von $NaCl + KCl + CaCl_2$ (in dem oben erwähnten, dem Seewasser entsprechenden Verhältnis) vergleichen.

Tabelle III.

Versuchs-reihe	Temperatur	Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde in		
		NaCaK	Na	NaKCa
5	23,5°	0,70	0,52	0,40
6	18,5°	0,54	0,53	0,41
7	21,5°	0,67	0,49	0,50

Versuch 7 ist identisch mit dem Versuch in Tabelle I.

Obwohl die Eier sich zum großen Teil noch entwickelten, wenn sie 1 Stunde der Chlornatriumlösung ausgesetzt waren, so wollten wir doch noch den Versuch in einer Weise anstellen, der jeden Zweifel an der Lebensfähigkeit der Eier ausschloß. Nach Warburg tötet die Chlornatriumlösung die Eier, weil sie die Oxydationen im Ei auf eine abnorme Höhe oder Geschwindigkeit bringt; während es die Funktion des Ca ist, diese entfesselten Oxydationen wieder auf das mit dem Leben verträgliche Maß zu reduzieren. Dieser letztere Teil von Warburgs Ansicht läßt sich auch prüfen, wenn man die Eier in eine Mischung von NaCl + KCl bringt und den Sauerstoffverbrauch in dieser Lösung mit dem in einer Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ (in dem üblichen Verhältnis der drei Salze) vergleicht. Loeb hat nämlich gefunden, daß die Eier sich in einer Mischung von 50 NaCl + 1,1 KCl relativ normal bis zum 64-Zellenstadium entwickeln, so daß ein Aufenthalt von einer Stunde sie relativ wenig schädigt. Es stellte sich aber heraus, daß der Zusatz von 0,8 ccm $CaCl_2$ zu einer solchen Lösung den Sauerstoffverbrauch absolut unverändert läßt.

Tabelle IV.

Versuchsreihe	Temperatur	Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde in			
		Na+K	Na+K+Ca	Na+K	Na+K+Ca
8	22,5°	0,57 mg	0,70 mg	0,46 mg	0,36 mg
9	23°	0,64 „	0,63 „	0,63 „	0,63 „
10	23°	0,64 „	0,54 „		
		Na+K+Ca	Na+K	Na+K+Ca	Na+K
11	22°	0,60 mg	0,65 mg	0,49 mg	0,33 mg

Der Abfall, der sich gegen Ende einiger dieser Versuche zeigt, rührt von einer Zerstörung der Eier her. Dieselbe war zum Teil wohl durch die Rotation des Atmungsgefäßes bedingt, die in einigen Versuchen etwas zu heftig war. Im Versuch 9 vermieden wir diese Fehlerquelle, und so blieb der Abfall des Sauerstoffkonsums auch aus.

Alle Versuche zeigen, daß kein Anzeichen dafür vorhanden ist, daß die Giftigkeit der Chlornatriumlösung daher rührt, daß sie die Oxydationsvorgänge steigert, und daß die entgiftende Wirkung des Ca auf eine Verminderung der Oxydationsgeschwindigkeit zurückgeführt werden darf.

5. Unsere Resultate widersprechen den Schlüssen, nicht aber den Versuchsresultaten Warburgs. Dieser Autor hat nämlich den Sauerstoffverbrauch in Lösungen gemessen, denen eine Spur Cyannatrium zugesetzt war. Es erschien wünschenswert, die Versuche von Warburg unter denselben Bedingungen zu wiederholen, unter denen er sie anstellte, nämlich mit Zusatz von etwas Cyannatrium. Gewöhnlich wurden 2 ccm einer $^1/_{10}$ %igen Lösung von Natriumcyanid zu der im Atmungsgefäß befindlichen Lösung (324,45 ccm) zugefügt. Es stellte sich nun heraus, daß in cyanidhaltigen Chlornatriumlösungen die Eier bei derselben Temperatur etwa zweimal so viel Sauerstoff pro Stunde verbrauchten, als wenn der Lösung Ca zugesetzt war. Das ist allerdings weniger als in Warburgs Versuchen, in denen das Verhältnis 5 : 1 war, aber doch im gleichen Sinne. Der folgende Versuch soll als Beispiel dienen.

Der Sauerstoffverbrauch betrug pro Stunde in

50 NaCl + 1,1 Cl + 0,8 $CaCl_2$	0,70 mg
„ + „ + „ + NaCN	0,44 „
50 NaCl + NaCN	0,90 „
50 NaCl + 1,1 KCl + 0,8 $CaCl_2$ + NaCN	0,35 „

Der Sauerstoffverbrauch betrug also in der cyannatriumhaltigen Chlornatriumlösung das Doppelte des Betrags, den er in der Mischung von NaCl, KCl und $CaCl_2$ mit demselben Zusatz von Cyannatrium erreicht. Zwei weitere Versuche derselben Art seien hier mitgeteilt.

Tabelle V.

Sauerstoffverbrauch pro Stunde in

NaCl + KCl + $CaCl_2$ + NaCN	NaCl + NaCN
0,41 mg	0,84 mg
0,29 „	0,66 „

Wenn hier nicht ein Zufall im Spiel ist, so könnte man daran denken, daß in Gegenwart von Ca entweder das Cyan wirksamer ist, als bei Abwesenheit von Ca, oder daß die Hydroxylionen der Cyannatriumlösung in Abwesenheit von Calcium die Oxydationen mehr beschleunigen als in Gegenwart von Calcium. Was aber auch der Grund für dieses überraschende Resultat sein mag, wir glauben, daß bei den Cyannatriumversuchen eine Komplikation vorliegt, die uns nicht gestattet,

diese Resultate zu Schlüssen auf das Verhalten von neutralen Lösungen ohne Natriumcyanid anzuwenden.

Wir kommen deshalb zu dem Schlusse, daß Cyannatrium die Giftigkeit einer Chlornatriumlösung auf das befruchtete Ei deshalb verringert, weil es die Entwicklung des Eies oder die der Entwicklung des Eier zugrunde liegenden Oxydationsvorgänge hemmt. Wie Loeb in einer demnächst erscheinenden Arbeit zeigen wird, ist das nur ein besonderer Fall eines allgemeinen Gesetzes, daß die Wirkung einer Reihe der verschiedenartigsten toxischen Agenzien auf das befruchtete Seeigelei gehemmt oder verringert werden kann, wenn man die Oxydationen im Ei durch Sauerstoffentziehung oder durch Zusatz von Cyannatrium oder Cyankalium hemmt.

Ist der Stillstand rhythmischer Kontraktionen in einer reinen Chlornatriumlösung durch Erhöhung der Oxydationsgeschwindigkeit bedingt?

Von

Jacques Loeb und Hardolph Wasteneys.

(Aus dem Rockefeller Institut, New York.)

(Eingegangen am 31. August 1910.)

In einer reinen Chlornatriumlösung schlägt der Ventrikel des Schildkrötenherzens eine relativ kurze Zeit, um dann in den bekannten Chlornatriumstillstand zu verfallen. Bei der kleinen Meduse Gonionemus beobachtete Loeb vor Jahren, daß dieselbe in einer reinen Chlornatriumlösung einige Minuten in rasche Pulsation verfällt und dann ebenfalls zu schlagen aufhört. Bringt man die Meduse nach 2 oder 3stündigem Aufenthalt aus der Chlornatriumlösung in Seewasser zurück, so tritt langsam eine Erholung ein. Im Anschluß an Warburgs Hypothese, daß eine Chlornatriumlösung auf das Seeigelei deshalb giftig wirkt, weil sie die Oxydationen auf das 5fache des gewöhnlichen Wertes erhöht, beschlossen wir zu untersuchen, ob die Chlornatriumlösung die Medusen dadurch zur Ruhe bringt, daß sie die Oxydationen derselben beschleunigt. Der Sauerstoffverbrauch wurde nach der Winklerschen Methode bestimmt. Die Medusen bleiben je 1 Stunde in Seewasser, dann in einer $^{21}/_{40}$ m-NaCl-Lösung und dann in einigen Versuchen wieder in Seewasser.

Die Methode der Versuche war dieselbe, wie sie in einer vorausgehenden Notiz von uns beschrieben worden ist. Die Zahl der benutzten Versuchstiere war in jedem Versuche verschieden. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die Interpretation der Versuche ist einfach. In der Chlornatriumlösung sinkt der Sauerstoffverbrauch, vermutlich infolge des Umstandes, daß die Muskeltätigkeit aufhört. Die letztere Annahme erhält eine Stütze dadurch, daß der Abfall des Sauerstoffverbrauches zunächst fortdauert, wenn die Tiere gleich wieder in Seewasser gebracht werden. Es dauert nämlich etwas mehr als 1 Stunde, ehe die Tiere sich wieder von der Chlornatriumwirkung erholen.

Versuchsreihe	Temperatur	Zahl der Medusen	Sauerstoffverbrauch pro Stunde in		
			Seewasser mg	NaCl mg	Seewasser mg
1	24°	41	0,62	0,26	0,31
2	21,5°	50	0,82	0,31	0,31
3	20°	13	0,15	0,11	0,31
			Seewasser	Na + K	Seewasser
4	23°	41	0,63	0,30	0,39

Um das Resultat zu sichern, stellten wir noch einen Versuch an, in dem der Sauerstoffverbrauch in einer $^3/_8$ m — (für die Tiere isotonischen) Magnesiumchloridlösung mit dem in Seewasser verglichen wurde. In der Magnesiumchloridlösung, die seit mehr als 20 Jahren zur Beruhigung der Medusen für die Zwecke der Konservierung angewendet wird, treten keine Kontraktionen der Medusen ein. Das Resultat war ähnlich wie im Chlornatriumversuch; nur mit dem Unterschied, daß die Tiere sich rascher von dem Magnesiumstillstand erholen, was auch in den Zahlen zum Ausdruck kommt.

Temperatur	Zahl der Medusen	Sauerstoffverbrauch pro Stunde in		
		Seewasser mg	$^3/_8$ $MgCl_2$ mg	Seewasser mg
21°	66	0,95	0,37	0,68

Wir sehen also, daß in einer reinen Chlornatriumlösung die Oxydation nicht gesteigert, sondern vermindert wird, das letztere wohl infolge der Neutralsalze.

Wir haben versucht, ob es gelingt, die Giftwirkung einer Chlornatriumlösung auf die Medusen durch Cyannatrium zu beseitigen. Das ist uns aber bis jetzt nicht gelungen. Das scheint anzudeuten, daß die Hemmung der Giftwirkung der Chlornatriumlösung durch Unterdrückung der Oxydationen nur für die Entwicklungsvorgänge, nicht aber für die Tätigkeit von Nerven oder Muskeln gelingt. Zur Entscheidung dieser letzteren Frage müssen aber noch weitere Versuche angestellt werden.

Erwiderung auf die Arbeit von Pauli und Wagner:

„Die innere Reibung von Albuminlösungen"

(diese Zeitschr. 26, 296).

Von

Leonor Michaelis.

(Eingegangen am 30. August 1910.)

Pauli und Wagner haben in der genannten Arbeit an einigen meiner letzten Mitteilungen eine Kritik geübt, die diese als das Produkt einer ganz frivolen und kritiklosen Arbeit charakterisieren.

Hierzu erwidere ich in sachlicher Beziehung folgendes:

Ich habe den Befund von Pauli, daß mit steigender Acidität der Lösung die Viscosität einer nach seiner Vorschrift salzfrei gemachten Albuminlösung durch ein Maximum gehe, gar nicht bezweifelt, und Pauli hätte sich die Nachprüfung seiner eigenen Arbeit sparen können, zumal er gerade diejenigen niederen Gebiete der Acidität, die ich in seiner ersten Mitteilung vermißte, jetzt wiederum übergangen hat.

Ich gab nur an, daß innerhalb des von mir gewählten Aciditätsbereiches dieses Maximum von Pauli noch nicht erreicht wurde; ich hob ausdrücklich hervor, daß ich das Aciditätsgebiet nach oben hin absichtlich aus folgendem Grunde nicht weiter ausdehnen wollte. Wenn wir nämlich immer mehr HCl zugeben, so kommen wir in ein Gebiet, wo die HCl wahrscheinlich eine doppelte Wirkung entfaltet; als Säure erhöht sie die innere Reibung des Albumins, als Chlorid vermindert sie dieselbe, ebenso wie NaCl. Bei großen Säuremengen arbeiten wir daher mit zwei Faktoren, die sich überdecken. Um die Verhältnisse klar zu übersehen, müßte man das Prinzip anwenden, das ich vor kurzem entwickelt habe, nämlich die Variation der H-Ionenkonzentration bei konstanter Gesamtelektrolytmenge. Das ist aber nur bei sehr niederen Aciditäten praktisch einigermaßen möglich, nämlich dann, wenn die Konzentration der H-

Ionen so gering ist, daß sie neben der Gesamtelektrolytkonzentration verschwindet.

Das einzige, was ich in der Arbeit mit Mostynski festzustellen suchte, war das Minimum der inneren Reibung in einem Punkte sehr niederer Acidität, der zwar bei der besonderen Ungunst der Verhältnisse nicht gerade sehr scharf zu definieren ist, aber doch offensichtlich sich mit dem auf andere Weise bestimmten isoelektrischen Punkt deckt. Dieses Minimum erwies sich als so konstant, daß es überhaupt der einzige konstante und immer reproduzierbare Befund war, unter allen möglichen Versuchsbedingungen, die sonst zu den mannigfaltigsten, kaum reproduzierbaren Resultaten führten.

Wenn Pauli meint, daß bei der Bestimmung des isoelektrischen Punktes nicht mit reinem Albumin, sondern mit „Alkalieiweiß" (in seinem Sinne) gearbeitet wurde, so ist das möglich. Aber gerade dieser von Pauli erhobene Einwand zeigt, daß er in den Sinn meiner Arbeiten noch ganz und gar nicht eingedrungen ist. Denn ich füge allen Eiweißlösungen auf jeden Fall ein Regulatorgemisch in solchem Überschuß hinzu, daß die etwa in der Eiweißlösung noch vorhandenen Alkalispuren vollkommen dagegen verschwinden.

Der von Pauli und Wagner angekündigten „Beleuchtung" meiner Gaskettenmessungen sehe ich mit Ruhe entgegen. Nicht nur in meinen Händen, sondern auch anderswo, z. B. in den Händen von Sörensen, hat sich die Gaskettenmessung als eine der sichersten, theoretisch bestbegründeten und praktisch bis zu den letzten Finessen ausgearbeiteten Methode erwiesen. Nur Pauli hat es nicht für notwendig befunden, die verschiedenen Aciditäten und Alkalitäten, mit denen er so oft operiert, durch Gasketten nachzumessen und hat lieber den von mir und Mostynski erwähnten „Indicatorenfehler" (wie es Sörensen genannt hat) begangen, anstatt ihn durch Gasketten zu kontrollieren.

Wenn daher Pauli meint, daß „meine Versuche zur quantitativen Bestimmung des isoelektrischen Punktes auch nicht annähernd irgend eine Geltung beanspruchen dürften", so erwidere ich ihm darauf erstens, daß er irrt, und zweitens, daß ich auf seinen Ton der Diskussion nicht eingehen werde.

Über eine neue Bildungsweise von Carbonylsäuren der Kohlenhydratreihe.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

In den letzten Jahren habe ich wiederholt zeigen können, daß bei einer großen Reihe der verschiedensten Oxydationen von Substanzen der Kohlenhydratreihe **Carbonylsäuren** auftreten, d. h. Verbindungen des Typus:

$$COH - (CH.OH)_x - COOH \text{ bzw.}$$
$$CH_2OH - (CH.OH)_n - CO - COOH.$$

So bei der Einwirkung des Sonnenlichtes[1]) und elektrischen Stromes[2]) auf Kohlenhydrate, deren Alkohole und Säuren, bei der Elektrolyse von Kohlenhydratsäuren[3]) und entsprechenden Oxyaminosäuren[4]) sowie mehrfach amidierten Säuren[5]), bei der Reaktion von Wasserstoffsuperoxyd[6]) mit Säuren der Zuckerarten, bei der Oxydation von Polyalkoholen mit Salpetersäure[7]).

---

[1]) C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. I. Diese Zeitschr. 13, 305, 1908.

[2]) C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. II. Diese Zeitschr. 17, 270, 1909.

[3]) C. Neuberg, Elektrolysen in der Zuckerreihe. Diese Zeitschr 7, 527, 1908.

[4]) C. Neuberg, L. Scott und S. Lachmann, Elektrolytischer Abbau von Mono- und Disaccharidsäuren sowie von Oxyaminosäuren. Diese Zeitschr. 24, 152, 1910.

[5]) C. Neuberg, Abbau einiger Di- und Oxyaminosäuren. Diese Zeitschr. 20, 531, 1909.

[6]) C. Neuberg und E. Hirschberg, Abbauversuche in der Kohlenhydratreihe. Diese Zeitschr. 27, 327, 1910.

[7]) C. Neuberg, Über Oxydationsprodukte des Erythrits. Diese Zeitschr. 24, 166, 1910.

Weiter habe ich darauf hingewiesen, daß auch bei der Vergärung größerer Zuckermengen solche Carbonylsäuren sich bilden können[1]), ferner bei der in die Pentosenreihe führenden Oxydation des Pyridins[2]) mit Hydroperoxyd und Eisensalz.

Allen diesen Carbonylsäuren, die der physiologisch wichtigen Glucuronsäure isomer oder homolog sind, ist die Fähigkeit gemeinsam, eine positive Naphthoresorcinreaktion nach B. Tollens[3]) zu liefern[4]), ferner die Eigenschaft, unlösliche basische Blei- und Bariumsalze zu bilden.

Die Mannigfaltigkeit der Reaktionen, bei denen Carbonylsäuren entstehen — andere Bildungsweisen haben früher E. Fischer und O. Piloty[5]), E. Fischer[6]), E. Fischer und J. Hertz[7]), H. Kiliani[8]), G. Bertrand[9]), O. Ruff[10]), A. Herzfeld[11]) mitgeteilt —, weisen darauf hin, daß diese Substanzen offenbar eine große Rolle bei dem Abbau in der Zuckerreihe spielen.

Am meisten Interesse bietet die direkte Entstehung dieser Aldehyd- oder Ketosäuren unmittelbar aus den Zuckerarten selbst. Überraschenderweise entstehen nun Carbonylsäuren bei einfacher Oxydation von Zuckern mit Salpetersäure.

Die Oxydation des Traubenzuckers mit Salpetersäure (vom spez. Gew. 1,15) führt, wie seit langem bekannt, zur d-Zuckersäure. Die jüngst von mir[12]) mitgeteilte Beobachtung, daß dem so dargestellten krystallisierten d-zuckersauren Kalium sowie der Schleimsäure ein Begleiter anhaftet, der eine intensive Naphtho-

---

[1]) C. Neuberg, Über einige Reaktionen vergorener Zuckerlösungen. Diese Zeitschr. 24, 430, 1910.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 20, 526, 1909.

[3]) B. Tollens, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1788, 1908.

[4]) J. A. Mandel und C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 148, 1908; C. Neuberg, diese Zeitschr. 24, 436, 1910.

[5]) E. Fischer und O. Piloty, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 522, 1891.

[6]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 2136, 1891.

[7]) E. Fischer und J. Hertz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 1247, 1892.

[8]) H. Kiliani, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 1247, 1892.

[9]) G. Bertrand, Étude bioch. de la bacterie de sorbose. Paris 1905.

[10]) O. Ruff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2269, 1899.

[11]) A. Herzfeld, Zeitschr. d. Ver. der Deutsch. Zuckerind. 37, 337.

[12]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 24, 440, 1910.

resorcinprobe gibt und der erst durch mehrfaches Umkrystallisieren zu entfernen ist, hat zu der Feststellung geführt, daß bei dieser hundertfach ausgeführten Reaktion in beträchtlicher Menge eine Carbonylsäure der 6-Kohlenstoffreihe entsteht.

Man kann von der gelbbraunen Mutterlauge des sauren d-zuckersauren Kaliums ausgehen, die man bei der Oxydation von 600 g Glucose mit 3000 ccm Salpetersäure (D = 1,15) erhält. Man neutralisiert die essigsaure Flüssigkeit fast mit Ammoniak und fällt mit einer konzentrierten Lösung von normalem Bleiacetat aus. Hierdurch werden noch vorhandene d-Zuckersäure sowie Verunreinigungen entfernt. Der Bleiniederschlag wird scharf abgesaugt und das nur noch schwach gefärbte Filtrat nunmehr genau mit Ammoniak neutralisiert. Die dabei entstehende Fällung wird verworfen und das Filtrat mit starker Bleiessiglösung ausgefällt. Der massige Niederschlag wird abgesaugt, gut mit Wasser ausgewaschen und dann nach gründlichem Verreiben mit Wasser im Mörser bei Gegenwart von frisch gefälltem Bariumcarbonat[1]) durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach vollständiger Zersetzung des Bleisalzes wird $^1/_4$ Stunde auf dem siedenden Wasserbade erhitzt, abfiltriert und im Vakuum eingeengt.

Durch vorsichtiges Eintropfen in absoluten Alkohol wird das Bariumsalz in fester Form erhalten und durch wiederholte Fällung aus Wasser durch Alkohol gereinigt.

Nach Einschaltung einer Entfärbung mit reinster Knochenkohle bildet das Bariumsalz ein lockeres, weißes Pulver, das sich in Wasser farblos löst.

Nach dem Trocknen bei 100° (Vakuum) hat es die Zusammensetzung: $(C_6H_9O_7)_2Ba$

0,1214 g Subst. 0,1213 g CO_2 und 0,0423 g H_2O,
0,1351 g „ 0,0592 g $BaSO_4$ (= 0,0347 g Ba).
$(C_6H_9O_7)_2Ba$: Ber.: C = 27,53; H = 3,44; Ba = 26,19;
gef.: C = 27,29; H = 3,88; Ba = 25,70.

Das Bariumsalz wie die daraus hergestellte Lösung der freien Säure reduzieren stark Fehlingsche Mischung schon

[1]) Die Zugabe von $BaCO_3$ hat einen doppelten Zweck. Dasselbe erleichtert die Bildung von Schwefelblei, da alle freie Säure sofort gebunden wird; dann wird noch vorhandene d-Zuckersäure in das unlösliche Bariumsalz verwandelt.

bei Zimmertemperatur und geben eine intensive Reaktion mit Naphthoresorcin sowie eine positive Phloroglucin- und Orcinprobe. Barytwasser fällt, wie aus Lösungen von Glucuronsäure[1]) beim gelinden Erwärmen ein orangefarbenes, flockiges, basisches Salz; Bleiessig, aber nicht Bleizucker erzeugt einen dicken Niederschlag. Auch Hydrazinderivate sind erhältlich.

Aus der Mutterlauge der ursprünglichen Bleiessigfällung läßt sich durch Ammoniakzusatz noch eine weitere Menge der Carbonylsäure ausfällen. Inzwischen hat sich gezeigt, daß die Darstellung auch ohne vorherige Isolierung von saurem d-zuckersaurem Kalium möglich ist.

Auf Grund der bewährten Furfuroldestillation nach B. Tollens[2]) konnte berechnet werden, daß mindestens 10% furfurolliefernde Substanz aus dem Ausgangsmaterial erhalten werden können. Als letzteres sind ebenfalls Glucoseanhydride, wie Maltose oder Stärke, verwendbar.

Die Darstellung von Carbonylsäuren gelingt auf demselben Wege auch mit den Isomeren der Glucose sowie in den übrigen Reihen, ferner mit den entsprechenden Polyalkoholen. Die Reaktion wie die Frage nach der sicheren Konstitution der hier beschriebenen Säure werden den Gegenstand weiterer Untersuchungen bilden.

---

[1]) Die Beziehungen der beiden Säuren zueinander sind durch einen eingehenden Vergleich festzustellen.

[2]) B. Tollens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 239, 1902.

Über den Ansatz bei natürlicher und künstlicher Ernährung.

II. Mitteilung.

Von

Arnold Orgler.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 24. August 1910.)

Unsere Kenntnisse über die Differenzen in der chemischen Zusammensetzung des Ansatzes bei natürlicher (arteigener) und bei künstlicher (artfremder) Ernährung stützen sich fast ausschließlich auf die Ergebnisse von Stoffwechselversuchen. Da diese Versuche nur einen verhältnismäßig kurzen Zeitraum umfassen, kann gegen die aus ihnen gezogenen Folgerungen stets der Einwand erhoben werden, daß wegen der kurzen Versuchsdauer die gefundenen Ansatzwerte sich nicht ohne weiteres auf den Ansatz in größeren Zeiträumen übertragen lassen. Einwandfreier als durch Stoffwechselversuche läßt sich die Größe des Ansatzes auf die Weise feststellen, daß man Tiere desselben Wurfes teils mit arteigener, teils mit artfremder Milch längere Zeit ernährt und dann die chemische Zusammensetzung des Tierkörpers ermittelt; hat die Art der Ernährung keinen vorübergehenden, sondern einen dauernden Einfluß auf den Ansatz, so muß ein Unterschied in der chemischen Zusammensetzung deutlich zutage treten.

Für den menschlichen Säugling liegen derartige Untersuchungen begreiflicherweise nicht vor; zwar kennen wir die chemische Zusammensetzung des Neugeborenen auf Grund von 10 mehr oder weniger ausführlichen Analysen, auch besitzen wir Analysen von Säuglingen, die an chronischen Ernährungs-

störungen zugrunde gegangen sind [Sommerfeld[1]), Steinitz[2]), Steinitz und Weigert[3])]. Aber so wertvoll dieses Zahlenmaterial auch ist, so wertvoll vor allen Dingen der von Steinitz[4]) in seiner grundlegenden Arbeit erbrachte Nachweis ist, daß die relative grobchemische Zusammensetzung des kindlichen Organismus im Vergleich zum Neugeborenen durch chronische Ernährungsstörungen nicht geändert wird, für die Lösung des Problems, in welcher Beziehung sich die chemische Zusammensetzung des natürlich ernährten Säuglings von derjenigen des künstlich ernährten unterscheidet, für die Lösung dieses Problems können sie nicht herangezogen werden, da die Analysen des Körpers eines natürlich ernährten Vergleichskindes fehlen. Auch Tierversuche, die diese Frage der Lösung näher bringen könnten, liegen meines Wissens bisher nicht vor; die meisten Ernährungsversuche an wachsenden Tieren wurden so angestellt, daß man Tiere von Geburt an mit verschieden zusammengesetzten, künstlich hergestellten Nahrungsgemischen aufzog, oder daß man den Einfluß einer Ernährung untersuchte, bei der ein Nahrungsbestandteil fehlte, oder ein anderer besonders reichlich zugeführt wurde.[5])

Gelegentlich einer anderen Fragestellung[6]) habe ich einen Wurf Hunde teils mit arteigener, teils mit artfremder Milch groß-

[1]) Sommerfeld, Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des kindlichen Körpers im ersten Lebensjahre. Arch. f. Kinderheilk. 30, 253.

[2]) Steinitz, Über den Einfluß von Ernährungsstörungen auf die chemische Zusammensetzung des Säuglingskörpers. Jahrb. f. Kinderheilk. 59, 447.

[3]) Steinitz und Weigert, Über den Einfluß einseitiger Ernährung mit Kohlenhydraten auf die chemische Zusammensetzung des Säuglingskörpers. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 206.

[4]) Steinitz, l. c.

[5]) Ältere Literatur siehe Weigert, Über den Einfluß der Ernährung auf die chemische Zusammensetzung des Organismus. Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 178. — Ferner O. Loewi, Über Eiweißsynthese im Tierkörper. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 48, 303 und die einschlägigen Arbeiten von Abderhalden und seinen Mitarbeitern in der Zeitschr. f. physiol. Chem. — Ferner: Lafayette B. Nendel, Der Einfluß der Nahrung auf die chemische Zusammensetzung des Tierkörpers. Diese Zeitschr. 11, 281. — Stockhausen, Beitrag zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Hundekörpers. Diese Zeitschr. 22, 244.

[6]) Orgler, Über den Ansatz bei natürlicher und künstlicher Ernährung. I. Mitteilung. Monatsschr. f. Kinderheilk. 8, 458.

gezogen, und ich glaube, daß die Analysen dieser Tiere geeignet sind, unsere Kenntnisse von der chemischen Zusammensetzung des Ansatzes bei natürlicher und künstlicher Ernährung zu ergänzen.

Die Tiere, 8 an der Zahl, wurden in der Zeit vom 18. VI. abends bis 19. VI. morgens 7 Uhr geworfen, eine genauere Zeitangabe ist nicht möglich. Bis zum 26. VI. wurden alle von der Mutter gesäugt; vom 26. VI. wurden 4 Tiere mit bester Kuhmilch großgezogen, während 4 bei der Mutter gelassen wurden. Am 17. VII., also nach 3wöchiger verschiedener Ernährung wurden je 2 Tiere getötet und analysiert, die andern 4 wurden am 29. VII., also nach 5wöchiger verschiedener Ernährung, getötet. Die mit Kuhmilch großgezogenen Tiere tranken ganz erhebliche Mengen, zeigten durchgehends große Bäuche und waren deutlich lebhafter als die natürlich ernährten; letzteres mag darauf beruhen, daß die natürlich genährten sich mit der Mutter in einem Raume befanden, in den nur der Laboratoriumsdiener und ich kamen; die künstlich genährten dagegen wurden nach der Trennung von der Mutter in kleinen Versuchskäfigen in einem dem Laboratorium angrenzenden Raum gehalten; sie waren nach kurzer Zeit die erklärten Lieblinge des Laboratoriums, man beschäftigte sich viel mit ihnen, und infolgedessen erhielten sie eine bessere „geistige“ Erziehung als die natürlich ernährten.

Die Tiere wurden, nachdem sie 20 Stunden vor dem Tode gehungert hatten, gewogen, mit Chloroform getötet, nach dem Tode sofort wieder gewogen und in einer Kältemischung oder mit flüssiger Kohlensäure zum Gefrieren gebracht. Die weitere Verarbeitung im gefrorenen Zustande geschah nach der von Steinitz[1]) beschriebenen Methode; die Tiere wurden durch eine Fleischhackmaschine geschickt; Harn, Magen- und Darminhalt wurden vorher entfernt, gewogen und ihr Gewicht vom Körpergewicht in Abzug gebracht. Das in einen Fleischbrei verwandelte Tier wurde unter Alkohol aufbewahrt. Die Maschine und alle benutzten Instrumente wurden mit Alkohol gut abgewaschen. Der Alkohol wurde häufig abgehebert und frisch aufgefüllt, dann durch häufig gewechselten Äther ersetzt; wenn die über dem Brei stehende Ätherschicht fast farblos war, wurde sie abgehebert, der Brei in gewogenen Porzellanschalen auf dem Wasserbade getrocknet, lufttrocken gewogen und dann in einer großen Kaffeemühle zu einem ziemlich feinen Pulver zerrieben. Die alkoholischen Extrakte wurden im Wasserbade eingedampft, von dem ätherischen Extrakte wurde der Äther bis auf ein kleines Volumen abdestilliert, der Rückstand wurde mit dem alkoholischen Rückstand vereinigt und die Reste von Äther auf dem Wasser-

[1]) Steinitz, l. c.

bade völlig verjagt. Das völlige Verjagen der letzten Alkohol-Ätherreste bereitete manchmal Schwierigkeiten; es gelang aber stets, in diesen Fällen durch wiederholtes Zugeben von Äther und Abdampfen auch diese letzten Reste völlig zu verjagen. Der alkoholisch-ätherische Rückstand wurde als „Rohfett" gewogen. Der Wassergehalt wurde durch Subtraktion des Gewichtes der Trockensubstanz + derjenigen des Rohfettes vom Körpergewicht ermittelt. In der Trockensubstanz wurden der Wassergehalt, Fett, Stickstoff, Asche und Kalk bestimmt; im Rohfett Stickstoff und Asche; das Rohfett war kalkfrei; stets wurden Doppelanalysen ausgeführt.

Die Geburtsgewichte der Tiere schwankten zwischen 270 und 300 g, die Gewichtszunahmen sind in folgender Tabelle verzeichnet:

Tabelle I.

Datum	Natürlich ernährt				Mit Kuhmilch vom 26. VI. ab ernährt			
	Tier I	IV	VI	VIII	II	III	V	VII
Geburtsgewicht: 19. VI.	299	272	317	326	314	278	310	270
26. VI.	497	422	524	602	462	502	574	470
30. VI.	589	449	—	765	597	612	664	524
6. VII.	—	—	—	—	670	770	835	710
7. VII.	1160	930	1120	1400	—	—	—	—
13. VII.	—	—	—	—	840	—	1060	—
14. VII.	1420	1270	1364	1780	—	940	—	975
23. VII.	—	†	—	†	1240	†	1375	†
29. VII.	2230 †		2005 †		1467 †		1655 †	

Es haben also zugenommen:

Die natürlich ernährten Tiere
in 6 Wochen
I. das 7,5fache des Geburtsgewichtes
VI. „ 6,3 „ „ „

im Durchschnitt das 6,9fache des Geburtsgewichtes;
in 4 Wochen
IV. das 4,6fache des Geburtsgewichtes,
VIII. „ 5,3 „ „ „

im Durchschnitt das 4,9fache des Geburtsgewichtes.

Die künstlich ernährten Tiere
in 6 Wochen
II. das 4,7fache des Geburtsgewichtes,
V. „ 5,3 „ „ „

im Durchschnitt das 5,0fache des Geburtsgewichtes;
in 4 Wochen
III. das 3,4fache des Geburtsgewichtes,
VII. „ 3,6 „ „ „

im Durchschnitt das 3,5fache des Geburtsgewichtes.

Es haben demnach die natürlich ernährten Tiere im gleichen Zeitraum bedeutend mehr an Gewicht zugenommen, als die künstlich ernährten; innerhalb der beiden Gruppen zeigt es sich, daß die mit Kuhmilch ernährten Tiere eine viel bessere Übereinstimmung der prozentischen Zunahme zeigen, als die natürlich ernährten, bei denen die Differenz der Zunahme bei den 6 Wochen alten Tieren 1,2 % beträgt. Worauf diese Differenz beruht, entzieht sich meiner Beurteilung, da die getrunkenen Nahrungsmengen nicht festgestellt wurden.

Diese Differenzen in der Zunahme bei natürlicher und künstlicher Ernährung machten sich natürlich auch in der chemischen Zusammensetzung der Tiere geltend, von denen 6 Tiere analysiert wurden (cf. Tabelle II).

Tabelle II.

Art der Ernährung	Nr.	Alter und Gewicht*)	Die Tiere enthalten:					
			Wasser	Fett	Trockensubstanz	N	Asche	CaO
natürlich	I	6 Wochen 2197	1374,5	488,8	333,9	51,46	67,45	22,48
	IV	4 Wochen 1238,5	809,6	249,2	179,7	25,53	32,33	10,46
	VIII	4 Wochen 1768,0	1102,1	410,8	255,1	34,97	48,87	18,23
künstlich	II	6 Wochen 1444	1018,3	202,8	222,8	29,77	46,97	15,45
	III	4 Wochen 885,5	641,0	110,8	133,7	20,63	25,79	8,1
	VII	4 Wochen 894,0	668,2	94,2	131,6	20,08	25,13	8,29

*) Gewicht = Gewicht nach dem Tode weniger Magen-, Darm- und Blaseninhalt.

Wir haben also bei sämtlichen mit Hundemilch aufgezogenen Tieren eine bedeutend stärkere Gewichtszunahme und einen erheblich größeren Ansatz von Fett, Trockensubstanz, Stickstoff, Asche und Kalk in demselben Zeitraum zu konstatieren, und es fragt sich, worauf diese Differenz beruht. Wenn wir Hundemilch und Kuhmilch miteinander vergleichen, sehen wir, daß die Hundemilch doppelt soviel Eiweiß und Asche und dreimal soviel Fett enthält als die Kuhmilch. Die mit Kuhmilch aufgezogenen Tiere hätten $2^1/_2$ mal soviel Liter Milch trinken müssen

als die mit Hundemilch ernährten Tiere, um die gleiche Calorienmenge, und doppelt soviel Milch, um die gleiche Eiweiß- und Aschemenge zu bekommen. Dabei ließen wir die Tiere trinken, bis sie satt waren, und nach jeder Mahlzeit konnten wir bei den mit Kuhmilch ernährten Tieren einen Riesenbauch beobachten, während diese Erscheinung bei den natürlich ernährten Tieren nicht auftrat.

Infolge des verschieden großen Wachstums sind die absoluten Werte für die Entscheidung der Frage, ob die relative chemische Zusammensetzung des Körpers durch die Art der Ernährung beeinflußt wird, nicht zu verwerten, und wir müssen daher die gefundenen Werte auf die gleiche Körpergewichtseinheit umrechnen. Die so gefundenen Zahlen sind in Tabelle III für die 4 Wochen alten und in Tabelle IV für die beiden 6 Wochen alten Hunde zusammengestellt.

Tabelle III.
4 Wochen alte Tiere.

Art der Ernährung	Nr.	1000 g Tier enthalten					
		Wasser	Fett	Trockensubstanz	N	Asche	CaO
natürlich	IV	653,6	201,2	145,1	20,61	26,1	8,45
	VIII	623,4	232,3	144,3	19,78	27,64	10,31
künstlich	III	723,9	125,1	151,0	23,3	29,12	9,15
	VII	747,4	105,4	147,2	22,47	28,11	9,28

Tabelle IV.
6 Wochen alte Tiere.

Art der Ernährung	Nr.	1000 g Tier enthalten					
		Wasser	Fett	Trockensubstanz	N	Asche	CaO
natürlich	I	625,6	222,5	151,9	23,4	30,7	10,2
künstlich	II	705,2	140,4	154,3	20,62	32,5	10,7

Das auffallendste Ergebnis der so ermittelten Werte ist die Differenz im Fett- und Wassergehalt. Die mit Kuhmilch ernährten Tiere zeigen einen bedeutend niedrigeren relativen Fett- und einen bedeutend höheren Wassergehalt als die natürlich ernährten Tiere. Bei diesem Parallelismus zwischen hohem Wasser- und niedrigem Fettgehalt fragt es sich, ob tatsächlich die mit Kuhmilch großgezogenen Tiere mehr Wasser pro

Körperkilogramm enthalten, oder ob es sich nur um eine rechnerische Folge des niedrigen Fettgehaltes handelt, worauf Rubner[1]) namentlich aufmerksam gemacht hat. „Der scheinbare Einfluß des Fettes auf den Wassergehalt ist nichts weiter als eine rechnerische Wirkung, worauf ich schon lange aufmerksam gemacht habe. Wenn in ein normales fettarmes Gewebe Fett eingelagert wird, so muß, weil letztere Substanz wasserfrei ist, der prozentische Wassergehalt sinken, ohne daß der Organismus selbst auch nur die geringste Wassermenge verloren zu haben braucht.“

Aus diesem Grunde habe ich sämtliche Werte auf 1000 g fettfreies Tier umgerechnet; man erhält dann folgende Werte:

Tabelle V.

4 Wochen alte Tiere.

Art der Ernährung	Nr.	1000 g fettfreies Tier enthalten				
		Wasser	Trockensubstanz	N	Asche	CaO
natürlich	IV	818,3	181,7	25,8	32,7	10,6
	VIII	812,0	188,0	25,8	35,95	13,4
künstlich	III	827,4	172,6	26,63	33,3	10,5
	VIII	835,5	164,5	25,1	31,4	10,4

Tabelle VI.

6 Wochen alte Tiere.

Art der Ernährung	Nr.	1000 g fettfreies Tier enthalten				
		Wasser	Trockensubstanz	N	Asche	CaO
natürlich	I	804,6	195,4	30,1	39,5	13,1
künstlich	II	820,4	179,6	24,0	37,8	12,5

Jetzt zeigt sich, daß in der Tat der allergrößte Teil der Differenz im Wassergehalt verschwunden ist, daß mithin diese Differenz größtenteils eine rechnerische Folge des verschieden hohen Fettgehaltes darstellte. Aber auch auf fettfreies Tier berechnet, ist der Wassergehalt der natürlich ernährten Tiere etwas niedriger als der der mit der Kuhmilch aufgezogenen, und zwar tritt diese Erscheinung sowohl bei den 4 Wochen alten, als auch bei den 6 Wochen alten Hunden hervor. Vergleicht man die jüngeren mit den älteren Tieren, so zeigt sich, daß

[1]) Rubner, Physiologie der Nahrung und der Ernährung. Leydens Handbuch d. Ernährungstherapie, 1, 50, 1898.

die älteren einen geringeren Wassergehalt besitzen, als die jüngeren in Bestätigung der Befunde von Fehling[1]) und Bezold.[2])

Entsprechend dem niedrigeren Wassergehalte ist auch die fettfreie Trockensubstanz bei den von der Mutter gestillten Hunden größer als bei den mit Kuhmilch ernährten.

Dagegen zeigt der Stickstoffgehalt, wenn wir von Tier I absehen, keine Differenz zwischen natürlicher und künstlicher Ernährung, auch die Werte für CaO, die bei den einzelnen Tieren verschieden sind, lassen keine Abhängigkeit von der Ernährung erkennen. Etwas schwieriger sind die Werte für den Aschegehalt zu deuten; im Durchschnitt enthalten sowohl die 4 Wochen alten, als auch das 6 wöchige Tier bei natürlicher Ernährung etwas mehr Asche als die gleichaltrigen künstlich ernährten; vergleichen wir aber die einzelnen Tiere, so sehen wir, daß der künstlich ernährte Hund III mehr Asche enthält als der natürlich ernährte IV, so daß ich geneigt bin, die kleinen Differenzen als individuelle Unterschiede aufzufassen. Dagegen ist bei den älteren Tieren der Aschegehalt deutlich größer als bei den jüngeren.

Wir haben also folgende 3 Punkte, in denen sich die von der Mutter gestillten Hunde von den mit Kuhmilch großgezogenen unterscheiden: 1. die natürlich ernährten Hunde sind im gleichen Zeitraum stärker gewachsen und haben absolut mehr Fett, Stickstoff, Asche und CaO angesetzt. 2. Auch der Fettansatz pro Körperkilogramm ist bei den natürlich ernährten Hunden beträchtlich höher als bei den künstlich ernährten. 3. Bei der Berechnung auf 1000 g fettfreie Leibessubstanz zeigen die natürlich ernährten Tiere einen höheren Gehalt an Trockensubstanz, während Stickstoff-, Asche- und Kalkgehalt keinen deutlichen, von der Ernährung abhängigen Unterschied erkennen lassen.

Die Ursache für das stärkere Wachstum der von der Mutter gestillten Hunde und für ihren relativ höheren Fettgehalt liegt, wie oben ausgeführt, in dem höheren Gehalt der Hundemilch an Eiweiß, Asche und an Calorien. Dagegen wird hierdurch

---

[1]) Fehling, zit. nach Czerny-Keller, Des Kindes Ernährung. Ernährungsstörungen und Ernährungstherapie, 1, 86, 1906.

[2]) Bezold, Das chemische Skelett der Wirbeltiere. Zeitschr. f wissenschaftliche Zoologie, 8, 487.

der Unterschied im Gehalt an Trockensubstanz bei Berechnung auf 1 kg fettfreie Leibessubstanz nicht erklärt. Da der Stickstoff- und Aschegehalt bei dieser Berechnung keinen Unterschied zwischen beiden Ernährungsformen erkennen läßt, können diese nicht zur Erklärung des höheren Trockensubstanzgehaltes herangezogen werden; der größere Gehalt an Trockensubstanz muß also auf dem vermehrten Gehalt an einer stickstoff- und aschefreien Substanz beruhen, wahrscheinlich auf Glykogen. Daß ein verschiedener Gehalt an Glykogen bei Hunden bei verschiedener Fütterung vorkommt, geht aus den schönen Untersuchungen von Stockhausen[1]) hervor; ich selbst habe bei meinen Tieren keine Glykogenbestimmungen gemacht. Allerdings liegt noch folgende Möglichkeit vor; da der Stickstoffgehalt der verschiedenen Eiweißkörper nicht derselbe ist, wäre es denkbar, daß z. B. bei den mit Kuhmilch ernährten Tieren Eiweißkörper mit höherem Stickstoffgehalt angesetzt würden als bei den natürlich ernährten; wenn dies der Fall wäre, würde bei den Kuhmilchtieren auf 1 g Stickstoff weniger Trockensubstanz entfallen als bei den natürlich ernährten, und so könnten trotz gleichen Stickstoffgehaltes die natürlich ernährten Tiere mehr Eiweiß enthalten als die künstlich ernährten und damit auch einen größeren Gehalt an fettfreier Trockensubstanz aufweisen. Berechnet man aber das Verhältnis der asche- und fettfreien Trockensubstanz : Stickstoff, wobei Stickstoff = 1 gesetzt wird, so erhält man folgende Tabelle:

Tabelle VII.

Asche- und fettfreie Trockensubstanz : N, N = 1.

	natürlich	künstlich
I	5,2	5,9
IV	5,8	5,2
VIII	5,9	5,3

Es geht aus ihr hervor, daß tatsächlich geringe Differenzen im Verhältnis der asche- und fettfreien Trockensubstanz zum Stickstoff bestehen, daß diese Differenzen aber von der Nahrung völlig unabhängig sind; denn wir finden Werte von 5,9 bzw. 5,2 sowohl bei den natürlich als auch bei den künstlich ernährten Tieren. Ich halte es daher für das wahrscheinlichste, daß die Vermehrung der Trockensubstanz nicht auf Verschiedenheiten der

[1]) Stockhausen, l. c.

stickstoffhaltigen Körper, sondern auf einem vermehrten höheren Gehalt an einer stickstoff- und aschefreien Substanz beruht.

So sind die Differenzen zwischen natürlicher und künstlicher Ernährung bei diesen Hunden auf quantitative, nicht auf qualitative Unterschiede zurückzuführen. Da die natürlich ernährten Tiere die zum Aufbau notwendigen Bausteine in reicherem Maße zugeführt bekamen, also unter günstigeren Wachstumsbedingungen standen, setzten sie in gleichem Zeitraum mehr Stickstoff, Asche und Fett an. Aber die relative chemische Zusammensetzung zeigt fast keinen Unterschied zwischen natürlich und künstlich ernährten Tieren; obwohl den mit Kuhmilch großgezogenen Hunden die Nährstoffe in einem ganz anderen Verhältnis angeboten wurden, hat sich bei ihnen der Ansatz doch derart vollzogen, daß die relative chemische Zusammensetzung fast dieselbe ist wie bei den natürlich ernährten Tieren. Änderungen der chemischen Zusammensetzung, die mit dem Älterwerden der Tiere eintraten (Verminderung des Wassergehaltes, Vermehrung des Aschegehaltes), treten gleichmäßig sowohl bei den natürlich ernährten, als auch bei den künstlich ernährten Tieren auf. Die Hunde halten also mit aller Energie an ihrer chemischen Zusammensetzung fest. Als einziger Unterschied zwischen beiden Gruppen ist ein höherer Trockensubstanzgehalt bei den natürlich ernährten Tieren zu konstatieren, der wahrscheinlich auf einem vermehrten Glykogengehalt beruht und vielleicht auch nur der Ausdruck der günstigeren Ernährungsbedingungen der natürlich ernährten Hunde sein dürfte.

Dies gilt natürlich nur für gesunde Hunde und für Ernährungsformen, bei denen nicht ein Nahrungsstoff völlig oder fast völlig ausgeschaltet ist. Die Hunde dieser Versuchsreihe verhalten sich also gegenüber der artfremden Milch genau so wie die zahlreichen menschlichen Säuglinge, die bei Kuhmilch prächtig gedeihen, ohne irgend einen Unterschied gegenüber den mit Frauenmilch ernährten zu zeigen. Über das Versagen der künstlichen Ernährung geben die Versuche keinen Aufschluß; sie bestätigen nur die an zahlreichen Beobachtungen an Säuglingen gemachte Erfahrung, daß der Kuhmilch allein nicht die Schuld zugemessen werden darf, sondern daß zum Mißerfolg der künstlichen Ernährung noch immer eine gewisse Insuffizienz des kindlichen Organismus gehört.

Noch nach einer anderen Richtung hin beanspruchen aber die gefundenen Zahlen ein gewisses Interesse. Die in Tabelle VII angeführten Zahlen lassen sich zwanglos in zwei Gruppen zusammenfassen, eine Gruppe, in der das Verhältnis fett- und aschefreier Trockensubstanz zum Stickstoff gleich 5,9 ist, und eine mit dem Verhältnis 5,25. Deutlicher tritt diese Gruppierung hervor, wenn wir die Werte für Stickstoff, Asche und Kalk auf fettfreie Trockensubstanz berechnen (s. Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

100 g fett- und aschefreie Trockensubstanz enthalten:

Art der Ernährung	Nr.	N	Asche	CaO
natürlich	I	15,4	20,2	6,7
	IV	14,2	18,0	5,8
	VIII	13,7	19,1	7,1
künstlich	II	13,4	21,1	6,9
	III	15,4	19,3	6,06
	VII	15,2	19,1	6,3

Bei dieser Berechnung schwankt der Aschegehalt zwischen 18,0 und 21,1 g, ohne daß eine Abhängigkeit von der Art der Ernährung konstatiert werden kann; beim Stickstoffe schwanken die Werte zwischen 13,4 und 15,4 g, beim Kalk zwischen 5,8 und 7,1 g gleichfalls völlig unabhängig von der Art der Nahrung; bei dem Stickstoff kann man zwei Gruppen unterscheiden; Tiere mit einem Gehalt von 13,8 g im Durchschnitt (IV, VIII, II) und solche mit einem durchschnittlichen Gehalt von 15,3 (I, III, VII); desgleichen kann man nach dem Kalkgehalt die Tiere in zwei Gruppen teilen, solche mit einem CaO-Gehalt von 6,1 g (IV, III, VII) und solche mit einem von 6,9 g (I, VIII, II). Diese Unterschiede sind, was ich noch einmal betonen möchte, völlig unabhängig von der Art der Ernährung; wir finden in beiden Gruppen sowohl natürlich als auch künstlich ernährte Tiere; sie liegen auch weit außerhalb der Analysendifferenzen, wie aus den Analysenbelegen hervorgeht, von denen ich als Beispiel die Analysen von Tier I (natürliche Ernährung) und von Tier II (künstliche Ernährung) am Schluß der Arbeit angeführt habe.

Wir haben es hier also anscheinend mit individuellen Differenzen zu tun, Differenzen, die in den extremsten Fällen

für 100 g fett- und aschefreie Trockensubstanz einen Unterschied von 2 g N, von 3 g Asche und 1,3 g CaO ergeben, Differenzen, die um so merkwürdiger sind, als die Tiere von demselben Wurfe stammen. Dieses Verhalten kann auf verschiedene Weise erklärt werden; einmal könnte es sich um Differenzen handeln, die erst nach der Geburt eingetreten sind, sei es, daß die Ernährung verschieden war, oder daß Krankheiten den Ansatz nach der einen oder andern Richtung ungünstig beeinflußten. Diese Erklärung trifft in diesem Falle nicht zu; da die Differenzen völlig unabhängig von der Art der Ernährung sind, und die Tiere stets gesund waren. Zweitens könnte man daran denken, daß die einzelnen Tiere bereits bei der Geburt eine verschieden große Fähigkeit für den Ansatz des einen oder anderen Körpers besitzen, daß z. B. ein Tier eine größere Affinität zum Kalk hat als ein anderes. Wenn aber derartige verschiedene Fähigkeiten vorhanden sind, so können sie meines Erachtens nicht mit der Geburt erst auftreten, sondern müssen bereits im intrauterinen Leben vorhanden sein. Denn in der Wachstumsentwicklung des Tieres bedeutet die Geburt nicht ein derartiges revolutionäres Ereignis, daß nun von diesem Momente ab neue, bis dahin unwirksame Kräfte beim Wachstum sich geltend machen. Bestehen also derartige verschieden große Fähigkeiten für den Ansatz bereits im intrauterinen Leben, so müssen schon Neugeborene eine verschiedene chemische Zusammensetzung aufweisen. Daß dies in der Tat der Fall ist, geht aus der folgenden Tabelle hervor, in der ich die vorliegenden Analysen von Neugeborenen zusammengestellt habe.[1])

Die Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung der Neugeborenen sind ziemlich beträchtlich; betragen sie doch pro Körperkilogramm für Stickstoff zirka 4 g, für Asche 15 g, für Ca 4 g. Aber man kann gegen die Verwertbarkeit dieser Analysen einwenden, daß ein verschieden hoher Fettgehalt bei den einzelnen Neugeborenen auf das Resultat von Einfluß sein könnte.

Leider liegen nur für die von Camerer und Söldner analysierten Neugeborenen Fettbestimmungen vor; ich habe daher diese Werte auf 100 g fettfreie Leibessubstanz berechnet und dabei gefunden, daß der Stickstoffgehalt zwischen 20,7 und

[1]) Nach den betreffenden Angaben in Kapitel IV von Czerny-Keller: Des Kindes Ernährung usw. zusammengestellten Analysen.

24,3 g, mithin um 3,5 g, der Aschegehalt zwischen 23,9 und 34,8 g, also um fast 11 g pro Körperkilogramm schwankt.

Tabelle IX.

1000 g Leibessubstanz enthalten:

Name des Untersuchers	Gewicht	Wasser	Fett	Asche	N	CaO
Fehling	3294	741,0	91	25,5	—	—
Giacosa	1850	—	—	33,5		13,7
de Lange	2680	—	—	29,5	—	11,5
Michel	3335	690	—	33,7	21,8	13,9
Hugouneng	2720	—	—	35,6	—	14,4
„	3300	—	—	32,2	—	12,3
Camerer und Söldner I	2616	716,0	137,0	20,6	17,9	10,3
„ II	2755	692,0	161,0	26,9	18,3	
„ III	2682	729,0	102,0	26,8	21,8	
„ IV[1])	2476	730,0	109,0	31,0	19,8	

Diese bei der Geburt bereits bestehenden Unterschiede müssen also durch intrauterin wirkende Kräfte hervorgerufen sein. Nun ist es bei diesen von verschiedenen Eltern stammenden Neugeborenen möglich, daß der Gehalt des Placentarblutes an den einzelnen den Körper zusammensetzenden Bausteinen bei ihnen verschieden war, so daß z. B. der eine mehr Asche, der andere mehr Stickstoff zugeführt bekam und daher entsprechend der größeren Zufuhr von dem einen oder anderen mehr ansetzte. Für die von derselben Mutter abstammenden Hunde trifft aber diese Erklärung nicht zu, denn für diese Tiere ist die Zusammensetzung des mütterlichen Blutes dieselbe. Hier sind wir gezwungen anzunehmen, daß die einzelnen Tiere bereits im embryonalen Leben eine verschieden große Affinität zu dem einen oder anderen Nahrungsbestandteil besitzen; diese verschieden große Affinität würde im extrauterinen Leben bestehen bleiben und bei der weiteren Entwicklung vielleicht deutlicher zutage treten, als es bei der Geburt der Fall war, bis durch Änderung der Ernährung und durch Besserung der Ansatzbedingungen das entstandene Manko mehr oder weniger ausgeglichen wird. Auf diese Weise möchte ich die verschiedene Zusammensetzung der fettfreien Trockensubstanz bei diesen Hunden erklären. Für diese Hypothese sprechen auch

[1]) Camerer und Söldner, Die chemische Zusammensetzung des Neugeborenen. Zeitschr. f. Biol. 40, 528.

Beobachtungen über die verschiedene Entwicklung menschlicher Zwillinge,[1]) auf die ich hier nicht näher eingehen will, zu deren Erklärung man aber ebenfalls eine bereits intrauterin bestehende, verschieden große Affinität zu den einzelnen Nährstoffen heranziehen muß.

Analysenbelege.

Tier I (natürlich ernährt).

Trockensubstanz:

1. 3,9507 g Subst. enthalten 3,7112 g Trocksbust. = 93,94 %.
2. 3,5332 g „ „ 3,3184 g „ = 93,92 %.

Stickstoff:

1. 0,3905 g gebrauchen 13,9 $^1/_5 H_2SO_4$ = 10,17 % N.
2. 0,3574 g „ 12,9 $^1/_5 H_2SO_4$ = 9,97 % N.

Asche:

1. 2,3296 g enthalten 0,3229 g Asche = 13,86 % Asche.
2. 1,363 g „ 0,1854 g „ = 13,61 % Asche.

CaO:

1. 3,9507 g enthalten 0,216 g CaO = 5,47 % CaO.
2. 3,5332 g „ 0,1956 g CaO = 5,54 % CaO.

Fett in Trockensubstanz:

1. 3,5324 g enthalten 0,5362 g Fett = 15,18 % Fett.
2. 3,1424 g „ 0,477 g „ = 15,18 % Fett.

Stickstoff in Rohfett:

1. 3,7797 g gebrauchen 28,3 $^1/_5 H_2SO_4$ = 2,096 % N.
2. 2,9676 g „ 23,3 $^1/_5 H_2SO_4$ = 2,198 % N.

Asche in Rohfett:

1. 6,8899 g enthalten 0,1676 g Asche = 2,43 %.
2. 4,1522 g „ 0,0769 g „ = 1,85 %.

Tier II (künstlich ernährt).

Trockensubstanz:

1. 3,1732 g Subst. enthalten 2,976 g Trocksubst. = 93,78 %.
2. 3,3018 g „ „ 3,106 g „ = 94,07 %.

---

[1]) Orgler, Beobachtungen an Zwillingen. Monatsschr. f. Kinderheilk. 9, 170.

Stickstoff:

1. 0,3424 g gebrauchen 12,3 1/5 H_2SO_4 = 10,06 % N.
2. 0,3618 g „ 13,1 1/5 H_2SO_4 = 10,14 % N.

Asche:

1. 1,5204 g enthalten 0,2343 g Asche = 15,41 % Asche.
2. 1,4384 g „ 0,2258 g „ = 15,70 % Asche.

CaO:

1. 3,1732 g enthalten 0,1886 g CaO = 5,94 % CaO.
2. 3,4408 g „ 0,1942 g CaO = 5,64 % CaO.

Fett in Trockensubstanz:

1. 4,541 g enthalten 0,5762 g Fett = 12,64 % Fett.
2. 3,6528 g „ 0,4476 g „ = 12,26 % Fett.

Stickstoff in Rohfett:

1. 3,7152 g gebrauchen 20,8 1/5 H_2SO_4 = 15,7 % N.
2. 3,673 g „ 20,4 1/5 H_2SO_4 = 15,5 % N.

Asche in Rohfett:

1. 5,9065 g enthalten 0,1848 g Asche = 3,13 % Asche.
2. 3,5604 g „ 0,1052 g „ = 2,96 % Asche.

Zur Theorie der Wassermannschen Reaktion.

Von

E. Gatz und R. Inaba.[1])

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. August 1910.)

Sachs und Rondoni[2]) haben bei der Ausführung der Wassermannschen Reaktion die Beobachtung gemacht, daß man je nach der Art der Verdünnung der alkoholischen Extrakte aus syphilitischen Lebern mit physiologischer Kochsalzlösung Flüssigkeiten bekommt, die in dem Grade der Trübung wesentliche Unterschiedo zeigen.

Verdünnt man den Extrakt, indem man ihn aus der Pipette in die entsprechende Menge der Kochsalzlösung rasch hineinbläst, so bekommt man eine klare, leicht opalescierende Flüssigkeit. Die Mischung ist dagegen dicht milchig-opalescent, wenn man zu dem Extrakt das nötige Quantum der Kochsalzlösung tropfenweise, unter ständigem Schütteln, zusetzt.

Diese Unterschiede zwischen den rasch und fraktioniert hergestellten Verdünnungen ließen sich auch bei einem Lipoid nachweisen, nämlich bei der Verdünnung einer alkoholischen Lecithinlösung mit Kochsalzlösung oder Wasser. Auch beim Verdünnen einer alkoholischen Lösung von oleinsaurem Natron machte sich, wenn auch nicht in dem Maße, die stärkere Opalescenz der fraktionierten Verdünnung bemerkbar. Daß das Phänomen noch im weiteren Umfange Geltung hat, sieht man aus den von Sachs und Rondoni angeführten Versuchen von Altmann[3]), der beim Verdünnen einer alkoholischen Mastixlösung erhebliche Differenzen im gleichen Sinne sah.

Sachs und Rondoni haben weiter beobachtet, daß die Art der Verdünnung nicht nur das Aussehen, sondern auch die komplement-

[1]) Die Kosten der Versuche wurden zum Teil von den Prof. Morgenroth aus der Eduard Simon-Stiftung bewilligten Mitteln bestritten.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 44.

[3]) l. c.

bindende Fähigkeit der Extrakte im Wassermannschen Versuch veränderte, und zwar in der Weise, daß die langsam verdünnten Extrakte eine stärkere Wirkung zeigten, als die rasch verdünnten. Syphilitische Sera, die mit fraktioniert verdünnten Extrakten positiv reagierten, gaben mit rasch verdünnten Extrakten ein negatives Resultat.

Die Autoren fanden, daß der „erhöhten Dichtigkeit" der fraktionierten Verdünnungen die Erhöhung der komplementbindenden Wirkung entspricht, und daß die Stärke der Reaktion von dem Grade der Dichtigkeit abhängig sei.

Sie nehmen an, daß es sich bei den Arten der Verdünnung um zwei chemisch gleich zusammengesetzte Flüssigkeiten handelt, und daß die Unterschiede nur physikalischer Natur seien. Für das entscheidende physikalische Moment halten die Autoren die Verschiedenheit der Teilchengröße.

Die Größe der suspendierten Teilchen in den langsam hergestellten Verdünnungen sei erheblicher. Das Verhalten der Verdünnungen bei der Wassermannschen Reaktion könne von der Größe der Teilchen abhängig sein, so daß „die biologische Reaktion als vergleichender Wertbemesser für die Teilchengröße dienen könnte".

Sachs und Rondoni erwähnen allerdings, daß es möglicherweise Extrakte gäbe, die das Phänomen nicht aufweisen und geben an anderer Stelle[1]) an, daß für das von ihnen hergestellte künstliche Gemisch B, das die alkoholischen Leberextrakte bei der Wassermannschen Reaktion vertreten kann, eine ziemlich rasche Art der Verdünnung zweckmäßig zu sein scheine.

In der letzteren Angabe liegt offenbar ein gewisser Widerspruch zu der zuerst vermuteten gesetzmäßigen Beziehung zwischen Teilchengröße der Extraktverdünnungen und ihrer Funktion im Wassermannschen Versuch.

Das äußerst interessante Verdünnungsphänomen ließ sich mit Leichtigkeit reproduzieren. Die Unterschiede bei den Extraktverdünnungen waren ganz frappant.

Bei ihrer Herstellung folgten wir genau den Angaben von Sachs und Rondoni, indem wir den Extrakt durch rasches Hineinblasen zu der 9fachen Menge der 0,85%igen Kochsalzlösung zusetzten, resp. zu dem Extrakt das 9fache der 0,85%igen Kochsalzlösung unter Schütteln eintröpfelten. Im ersten Falle bekamen wir eine klare, mehr oder weniger opalescierende, im zweiten eine undurchsichtige, milchig-trübe Lösung. Bei einem Extrakt, der durch Gallenfarbstoff dunkelgrün gefärbt war, und den wir kurz als „grün" bezeichneten, stießen wir beim raschen Verdünnen insofern auf Schwierigkeiten, als auch die mög-

[1]) Beiträge z. Theorie u. Praxis der Wassermannschen Reaktion, 1; Über den Ersatz der Organextrakte bei der Reaktion, Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1908, 146.

lichst rasch hergestellte Lösung bald eine deutliche Trübung zeigte, die beim Stehen immer stärker wurde.

Nachdem wir gesehen hatten, daß das Verdünnungsphänomen sich bei den von uns untersuchten Extrakten in typischer Weise reproduzieren läßt, untersuchten wir das Verhalten derselben bei der Wassermannschen Reaktion.

Zu allen folgenden Reaktionen wurden stets 0,5 ccm eines 5⁰/₀igen, 2mal gewaschenen Ziegenblutes verwendet. Als Amboceptor diente stets das inaktive Serum eines mit Ziegenblut vorbehandelten Kaninchens vom Titer 0,001, wobei das 3fache der Amboceptoreinheit verwendet wurde. Als Komplement diente stets 0,05 ccm eines frischen oder im Frigo aufbewahrten Meerschweinchenserums. Extraktverdünnungen, inaktives syphilitisches Serum 0,1 ccm und Meerschweinchenserum wurden zunächst gemischt, nach $^1/_2$ Stunde Verweilen im Brutschrank wurden Amboceptor und Blut zugesetzt.

Bei den Versuchen mit dem Extrakt 272 ließ sich das Verhalten der beiden Verdünnungen in bezug auf die Komplementbindung den Beobachtungen von Sachs und Rondoni entsprechend bestätigen. Bei folgenden Versuchen mit vier verschiedenen syphilitischen Seris zeigt B (langsame Verdünnung) eine erheblich stärkere komplementbindende Fähigkeit, A (rasche Verdünnung) eine geringere oder gar keine.

Tabelle I.
Extrakt 272.
Syphilitische Sera I, II, III, IV 0,1.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	Serum I		Serum II		Serum III		Serum IV	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0,5 $^1/_{10}$	kompl.	0	stark	0	0	0	mäßig stark	0
0,25	„	0	stark-fast komplett	0	Spur	wenig	stark	0
1,0 $^1/_{100}$	„	0	fast komplett	Spur	kompl.	„	kompl.	Spur
0,5	„	0	komplett	mäßig	„	stark	„	fast kompl.
0,25	„	stark, f. kompl.	„	kompl.	„	kompl.	„	kompl.

Die Differenzen, die bei diesem Extrakte so auffallend sind, sind unabhängig von der absoluten Komplementbindungs-

fähigkeit der einzelnen Sera. Nimmt man als Maßstab das Verhalten der Sera bei Anwendung des langsam verdünnten Extraktes, so steht bei Serum I der stärksten Komplementbindung vollständiges Fehlen derselben bei Anwendung des rasch verdünnten Extraktes gegenüber. Dagegen sind die Differenzen bei den drei anderen Seris, die geringere Komplementbindung geben, weniger ausgeprägt. Zieht man die Versuche mit $0{,}5\,^1/_{10}$-Extrakt in Betracht, bei denen die in der Praxis der Wassermannschen Reaktion üblichen Mengenverhältnisse eingehalten sind, so sieht man, daß nur das Serum III bei beiden Verdünnungen als positiv reagierend erscheinen würde. Serum I imponiert mit langsam verdünntem Extrakt geprüft als positiv, dagegen mit rasch verdünntem Extrakt als negativ.

Es wäre bei einem derartigen Extrakt für die praktische Anwendung selbstverständlich nur die langsame Verdünnung heranzuziehen, während die rasch angefertigte von vornherein als unanwendbar erscheint.

Wir sehen aus diesen Versuchen, daß zwar das prinzipielle Verhalten des Extraktes bei Anwendung verschiedener Sera das gleiche ist, daß dagegen die quantitativen Verhältnisse ungemein stark variieren.

Der Extrakt v. 17. IX. wurde vor etwa einem Jahre wiederholt mit verschiedenen Seris geprüft und zeigte ein analoges, etwas weniger ausgesprochenes Verhalten, wie Extrakt 272.

Tabelle II.

Syphilit. Sera I, II, III 0,1.

A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	Serum I		Serum II		Serum III	
	A	B	A	B	A	B
$1{,}0\,^1/_{10}$	fast komplett	Spur	Spur	0	Spürchen	0
$0{,}5\,^1/_{10}$	komplett	stark-fast komplett	Spur-sehr wenig	Spürchen	wenig	0
$0{,}25\,^1/_{10}$	„	komplett	wenig	„	stark-fast komplett	sehr wenig
$0{,}1\,^1/_{10}$	—	—	„	wenig	fast komplett	stark-fast komplett

Als wir diesen Extrakt zuletzt prüften, zeigte sich folgendes Verhalten.

Tabelle III.

Extraktmenge	A	B
0,5 $^1/_{10}$	0	0
0,25	0	0
1,0 $^1/_{100}$	0	0
0,5	0	minimal
0,25	0	stark, fast komplett

Im Prinzip stimmt dieser Extrakt mit den Beobachtungen von Sachs und Rondoni überein. Bei der letzten Prüfung liegt die beobachtete Differenz außerhalb der Grenze der für die Praxis in Frage kommenden Extraktmengen. Eine weitere Prüfung des Extraktes hätte vielleicht ergeben können, daß die Art der Verdünnung für die praktische Anwendung nicht in dem Maße ausschlaggebend ist, wie bei dem Extrakt 272, daß aber der langsame Verdünnungsmodus zu fordern ist.

Bei dem an und für sich schwach wirksamen Extrakt v. 3. XII. war die langsame Verdünnung stärker komplementbindend, ja sogar bei den folgenden tabellarisch angeführten Versuchen war keine Komplementbindung bei der raschen Verdünnung zustande gekommen.

Tabelle IV.
Versuch v. 3. II.
Syphilit. Sera I, II 0,1.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extrakt-menge	Serum I		Serum II	
	A	B	A	B
0,5 $^1/_{10}$	komplett	wenig-mäßig	komplett	Spur
0,25	„	„ „	„	wenig-mäßig
1,0 $^1/_{100}$	„	„ „	„	stark
0,5	„	„ „	„	wohl komplett
0,25	„	komplett	„	komplett
0,1	„	„	„	„

Bei einem Versuche einige Wochen vorher war dagegen folgendes Resultat zu konstatieren:

Tabelle V.
Versuch v. 9. XII.
Syphilit. Serum 0,1.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	A	B
0,5 $^1/_{10}$	0	0
0,25	0	0
1,0 $^1/_{100}$	Spürchen	Spürchen
0,5	Spur	stark
0,25	wenig	fast komplett

Auch die zwei folgenden Extrakte ergaben, daß bei verschiedenen Versuchen die Resultate untereinander differierten, und zwar nicht immer im selben Sinne. Der eine Extrakt v. 3. VII. zeigte mit einem Serum eine stärkere Komplementbindung bei der langsamen, mit einem anderen bei der raschen Verdünnung. Der Extrakt „grün“ war in einem Falle wirksamer bei der langsamen, im anderen bei der raschen Verdünnung und zeigte gleiche Wirksamkeit bei beiden Verdünnungen im dritten Falle. Dieser letzte Extrakt ist derjenige, der die obenerwähnten Schwierigkeiten bei der Herstellung der raschen Verdünnung zeigte.

Tabelle VI.

Extrakt v. 3. VII.

Syphilit. Sera I, II 0,1.

A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	Serum I		Serum II	
	A	B	A	B
0,5 1/10	Spur	0	0	0
0,25	mäßig	0	Spürchen	minimal
1,0 1/100	stark	mäßig-stark	„	fast komplett
0,5	„	stark	Spur	komplett
0,25	fast komplett	fast komplett	stark	„

Tabelle VII.

Extrakt „grün“.

Syphilit. Sera I, II, III 0,1.

Extraktmenge	Serum I		Serum II		Serum III	
	A	B	A	B	A	B
0,5 1/10	0	0	0	0	0	0
0,25	Spur	0	0	Spur	0	1
1,0 1/100	fast komplett	wenig-mäßig	Spur	fast komplett	wenig	wenig
0,5	komplett	fast komplett	stark	komplett	stark-fast komplett	stark-fast komplett
0,25	„	komplett	komplett	„	komplett	komplett

Diese Extrakte mit den schwankenden Resultaten bilden den Übergang zu Extrakten, deren Verhalten sich im geraden Gegensatz zu den von Sachs und Rondoni beschriebenen stand.

Die drei folgenden Extrakte zeigten konstant ein solches Verhalten, indem die rasch hergestellten Verdünnungen eine stärkere komplementbindende Fähigkeit zeigten.

Tabelle VIII.
Extrakt v. 5. IV.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	A	B
0,5 $^{1}/_{10}$	Spürchen	0
0,25	0	0
1,0 $^{1}/_{100}$	0	0
0,5	0	minimal Spürchen
0,25	minimal Spürchen	fast komplett

Tabelle IX.
Extrakt v. 22. XI.
Syphilit. Sera I, II 0,1.

Extrakt-menge	Serum I		Serum II	
	A	B	A	B
0,5 $^{1}/_{10}$	0	0	0	0
0,25	0	0	0	0
1,0 $^{1}/_{100}$	0	minimal	—	0
0,5	—	stark	Spur	stark
0,25	Spürchen	komplett	stark	komplett
0,1	stark	—	komplett	„

Tabelle X.
Extrakt v. 28. VIII.
Syphilit. Sera I, II, III 0,1.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extrakt-menge	Serum I		Serum II		Serum III	
	A	B	A	B	A	B
0,5 $^{1}/_{10}$	0	0	—	—	—	—
0,25	0	0	0	stark	0	0
1,0 $^{1}/_{100}$	0	Spur	fast komplett	komplett	stark	mäßig-stark
0,5	Spur	fast komplett	komplett	„	fast komplett	komplett
0,35	—	do.	„	„	wohl komplett	„
0,25	wohl komplett	wohl komplett	„	„	komplett	„

Eine Reihe von Versuchen haben wir mit Extrakten gemacht, die vor der Verdünnung im Eistopf auf 0° gebracht wurden oder 48^{h} lang im Frigo bei etwa — 12° aufbewahrt wurden. Auch die zu der Verdünnung gebrauchte Kochsalzlösung wurde

vorher auf 0° abgekühlt. Nach der Abkühlung zeigten die Extrakte einen grobflockigen Niederschlag, der sich beim Stehen im Zimmer löste. Die typischen Unterschiede im Aussehen der beiden Arten der Verdünnungen waren nicht mehr bemerkbar, sondern es zeigten sich Trübungen, die man sonst nur bei den langsam hergestellten Verdünnungen wahrnehmen konnte. Im Verhalten der Extraktverdünnungen in bezug auf die komplementbindende Fähigkeit war konstant 1. eine Verstärkung derselben, 2. das Verschwinden oder Verschwommenwerden der bei Zimmertemperatur beobachteten Unterschiede.

Folgende vier Extrakte wurden auf diese Weise geprüft:

272,
„grün“,
v. 3. VII.,
v. 3. XII.

Tabelle XI.
Extrakt 272.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.
I. Auf 0° abgekühlt.
II. Bei Zimmertemperatur.

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
0,5 1/10	0	0	wenig	0
0,25	0	0	stark, fast kompl.	minimal
1,0 1/100	0	Spur	komplett	stark
0,5	stark	stark	„	fast komplett
0,25	komplett	komplett	„	komplett
0,1	„	„	„	„

Tabelle XII.
Extrakt „grün“.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.
I. Auf 0° abgekühlt.
II. Bei Zimmertemperatur.

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
0,5 1/10	0	0	0	0
0,25	0	0	Spur	0
1,0 1/100	0	Spur	fast komplett	wenig-mäßig
0,5	wenig-mäßig	mäßig	komplett	fast komplett
0,25	stark	komplett	„	komplett

Tabelle XIII.

Extrakt v. 3. VII.

A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

I auf 0° abgekühlt, II bei Zimmertemperatur.

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
0,5 $^1/_{10}$	Spur	0	0	0
0,25	Spürchen	0	Spürchen	minimal
1,0 $^1/_{100}$	0	0	„	fast komplett
0,5	0	0	Spur	komplett
0,25	0	0	stark	„

Tabelle XIV.

Extrakt v. 3. XII.

A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

I auf 0° abgekühlt, II bei Zimmertemperatur.

1. Versuch.

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
0,5 $^1/_{10}$	Spur	Spürchen	komplett	wenig-mäßig
0,25	„	„	„	„ „
1,0 $^1/_{100}$	„	„	„	„ „
0,5	mäßig stark	mäßig stark	„	„ „
0,25	wohl kompl.	fast komplett	„	komplett
0,1	komplett	komplett	„	„

2. Versuch.[1])

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
0,5 $^1/_{10}$	wenig-mäßig	wenig mäßig	komplett	Spur
0,25	„ „	„ „	„	wenig-mäßig
1,0 $^1/_{100}$	„ „	„ „	„	stark
0,5	„ „	„ „	„	wohl komplett
0,25	fast komplett	„ „	„	komplett
0,1	komplett	fast komplett	„	„

Einen Extrakt haben wir vor dem Verdünnen über der Gasflamme erhitzt. Wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich, war daraufhin eine noch größere Verstärkung der komplementbindenden Fähigkeit zu beobachten, wie nach der Abkühlung.

[1]) Im 2. Versuch wurde der Extrakt im Frigo abgekühlt.

Im ganzen sehen wir, daß der Temperaturwechsel die Wirksamkeit der Extrakte verstärkt. Was die Unterschiede zwischen den beiden Arten der Verdünnung anbetrifft, so verschwinden sie mehr oder weniger nach der Abkühlung, bleiben dagegen nach vorausgegangener Erhitzung bestehen.

Tabelle XV.

Extrakt v. 3. XII.

A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

I auf 0° abgekühlt, II bei Zimmertemperatur, III erhitzt.

1. Versuch.

Extraktmenge	I		II		III	
	A	B	A	B	A	B
$0{,}5\ ^1/_{10}$	wenig mäßig	wenig mäßig	komplett	Spur	komplett	Spur
0,25	do.	do.	"	wenig mäßig	fast komplett	"
$1{,}0\ ^1/_{100}$	do.	do.	"	stark	stark	Spur, wenig
0,5	do.	do.	"	wohl komplett	mäßig stark	wenig mäßig
0,25	fast komplett	do.	"	komplett	komplett	do.
0,1	komplett	fast komplett	"	"	"	mäßig stark

2. Versuch.

Extraktmenge	I		II		III	
	A	B	A	B	A	B
$0{,}5\ ^1/_{10}$	Spur	Spürchen	komplett	wenig mäßig	Spur	0
0,25	"	"	"	do.	wenig	0
$1{,}0\ ^1/_{100}$	"	"	"	do.	wenig mäßig	0
0,5	mäßig stark	mäßig stark	"	do.	stark	fast komplett
0,25	komplett	fast komplett	"	komplett	fast komplett	komplett

Die Annahme, daß die Unterschiede zwischen den beiden Arten der Extraktverdünnung physikalischer Natur seien, stützten Sachs und Rondoni auch durch die Beobachtung, daß die erhöhte Dichtigkeit und Verstärkung der komplementbindenden Fähigkeit nicht von einer Veränderung der hämolytischen Kraft begleitet wäre.

Wir haben in dieser Richtung 7 Organextrakte und ein künstliches Gemisch (Sachs und Rondoni, Gemisch A)

geprüft und dabei das in den folgenden Tabellen wiedergegebene Verhalten konstatiert:

Tabelle XVI.

Extrakt v. 22. XI.
I auf 0° abgekühlt, II bei Zimmertemperatur.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extrakt-menge	I		II	
	A	B	A	B
0,2 $^1/_{10}$	komplett	komplett	komplett	komplett
0,15 „	„	„	„	„
1,0 $^1/_{100}$	wenig	wenig	„	wenig
0,9 „	0	0	fast komplett	„
0,8 „	0	0	wenig	Spürchen
0,7 „	0	0	Spürchen	0
0,6 „	0	0	„	0
0,5 „	0	0	0	0

Tabelle XVII.

Extrakt 272.
I auf 0° abgekühlt, II bei Zimmertemperatur.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extrakt-menge	I		II	
	A	B	A	B
0,5 $^1/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett
0,4 „	„	„	„	fast komplett
0,3 „	wenig	wenig	wenig	wenig
0,2 „	0	0	0	0

Tabelle XVIII.

Extrakt „grün".
I auf 0° abgekühlt, II im Frigo auch ca. — 12°, III bei Zimmertemperatur.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extrakt-menge	I		II		III	
	A	B	A	B	A	B
1,0 $^1/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,9 „	„	„	„	„	„	„
0,8 „	„	„	„	„	„	„
0,7 „	„	„	fast komplett	fast komplett	„	stark
0,6 „	wenig	wenig	stark	stark	„	wenig
0,5 „	0	0	0	0	„	0
0,4 „	0	0	0	0	fast komplett	0
0,3 „	0	0	0	0	0	0

Tabelle XIX.

Extrakt v. 3. XII.
I auf 0° abgekühlt, II im Frigo auf ca. — 12°, III bei Zimmertemperatur.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	I		II		III	
	A	B	A	B	A	B
1,0 $^{1}/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,9 „	„	„	„	„	„	„
0,8 „	„	„	„	„	„	„
0,7 „	„	„	„	„	„	„
0,6 „	„	fast komplett	stark	„	„	stark
0,5 „	wenig	stark	wenig	0	„	0
0,4 „	„	wenig	0	0	fast komplett	0
0,3 „	0	0	0	0	0	0

Tabelle XX.

Extrakt v. 3. VII.
I bei 0°, II bei Zimmertemperatur.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
1,0 $^{1}/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett
0,8 „	„	„	„	„
0,7 „	„	fast komplett	„	„
0,6 „	wenig	wenig	„	wenig
0,5 „	0	0	„	sehr wenig
0,4 „	0	0	sehr wenig	0
0,3 „	0	0	Spürchen	0
0,2 „	0	0	0	0

Tabelle XXI.

Künstlicher Extrakt (Sachs und Rondoni, Gemisch A).
I bei 0°, II bei Zimmertemperatur.
A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extraktmenge	I		II	
	A	B	A	B
0,4 $^{1}/_{10}$	komplett	komplett	komplett	komplett
0,3 „	„	„	„	„
0,2 „	wenig	wenig	„	wenig
0,15 „	0	0	mäßig	0
1,0 $^{1}/_{100}$	0	0	wenig	0
0,9 „	0	0	Spürchen	0
0,8 „	0	0	0	0

Tabelle XXII.

Extrakt v. 17. IX. und v. 5. IV. bei Zimmertemperatur.

A. rasche Verdünnung, B. langsame Verdünnung.

Extrakt-menge	Extrakt v. 17. IX.		Extrakt v. 5. IV.	
	A	B	A	B
1,0 $^{1}/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett
0,9 „	„	„	„	„
0,8 „	„	„	„	„
0,7 „	„	wenig	„	„
0,6 „	„	0	„	stark
0,5 „	„	0	mäßig	wenig
0,4 „	Spur	0	Spur	0
0,3 „	0	0	„	0

Mit Ausnahme des Extraktes 272 scheint also bei allen Extrakten eine Abhängigkeit der hämolytischen Kraft von der Art der Verdünnung vorhanden zu sein. In allen Versuchen sind die rasch hergestellten Verdünnungen stärker hämolytisch, nur 272 zeigt genau dieselben Resultate bei beiden Verdünnungsarten. Es geht demnach das Verhalten der verschiedenen Extraktverdünnungen bezüglich ihrer hämolytischen Fähigkeit nicht parallel mit dem der komplementbindenden. Auch der künstliche Extrakt zeigt keine Abweichung von diesem typischen Verhalten. Dagegen bringt die vorherige Abkühlung der Extrakte diese Differenz zum Schwinden und schwächt im ganzen die hämolytische Kraft.

Wir untersuchten nun eine Anzahl Seifen auf ihr hämolytisches Verhalten je nach der Art der Verdünnung und konnten auch hier Differenzen feststellen.

Die Seifen sind mit drei Blutarten geprüft worden, nur bei Zimmertemperatur verdünnt, und ergaben keine mit den Extrakten übereinstimmenden Resultate, indem die Stärke der hämolytischen Kraft nicht in bestimmte Beziehung zu dem je nach der Art der Verdünnung differierenden Aussehen der Lösungen zu setzen war. Auch waren die Unterschiede im Aussehen nicht bei allen geprüften Seifen vorhanden. So waren die auf beide Art hergestellten Verdünnungen bei Caesium- und Rubidiumoleat fast gleich klar. Bei oleinsaurem Na und stearinsaurem Ka trat bei der langsam hergestellten Verdünnung flockiger Niederschlag,

bei palmitinsaurem Na flockiger Niederschlag bei beiden Verdünnungen auf. Die übrigen Seifen waren leicht opalescierend bei der raschen, stärker opalescierend bei der langsamen Art der Verdünnung.

Wir untersuchten 0,3 %iges oleinsaures und 0,3 %iges palmitinsaures Na, 0,3 %iges stearinsaures Ka, 1 %iges Rubidium-, 1 %iges Caesiumoleat, 1 %iges Methylamin- und 1 %iges Heptylaminoleat mit 5 % Aufschwemmungen von Ziegen-, Kaninchen- und Meerschweinchenblut.

Tabelle XXIII.

(I = rasche Verdünnung, II = langsame Verdünnung.)

		Ziegenblut		Meerschweinchenblut		Kaninchenblut	
		I	II	I	II	I	II
Methylaminoleat							
	1.	120	100	80	100	75	100
	2.	100	100				
	3.	100	100				
Heptylaminoleat							
	1.	120					
	2.	120	100	83	100	125	100
	3.	120	100			138	100
	4.	120	100				
Caesiumoleat							
	1.	85	100	100	100	150	100
	2.	114	100			100	100
	3.	100	100				
Rubidiumoleat							
	1.	83	100	83	100	70	100
	2.					100	100
Stearinsaures Na							
	1.	·78	100	87	100		
	2.	86	100				
Stearinsaures Ka							
	1.	70	100	87	100	83	100
	2.	78	100			70	100
Palmitinsaures Na							
	1.	100	100	90	100	150	100
	2.	133	100			100	100
	3.	100	100				
Oleinsaures Na							
	1.	100	100	100	100	100	100
	2.	100	100			100	100

Wir haben die Resultate unserer zahlreichen Versuche in der vorhergehenden Tabelle zusammengestellt, aus der sich er-

gibt, daß im hämolytischen Verhalten der Seifenlösungen von einer strengen Regelmäßigkeit nicht die Rede sein kann. Wenn wir die hämolytische Fähigkeit der durch langsames Verdünnen hergestellten Seifenlösungen mit 100 bezeichnen (Tab. XXIII), so ergeben sich für das Verhalten der rasch hergestellten Lösungen übersichtliche Verhältniszahlen.

Bei Na oleinic. ist in den 5 Versuchen, die wir angestellt haben, das Verhalten der beiden Lösungen identisch. Bei den übrigen Seifen sind Schwankungen vorhanden, deren Ursachen wir nicht kennen. Wir glauben nicht, daß die Verwendung verschiedener Blutarten hierfür verantwortlich zu machen ist, sondern es dürfte sich um nicht kontrollierbare Modalitäten bei der Herstellung der Verdünnungen handeln. So viel ist zu ersehen, daß bei stearinsaurem Na und Ka stets die rasch hergestellten Verdünnungen eine geringere hämolytische Kraft haben und daß bei Rubidiumoleat in 3 Fällen dasselbe Verhältnis, in 1 Falle aber Gleichheit besteht. Bei Methylaminoleat und Caesiumoleat ist das Verhältnis wechselnd, dagegen sehen wir bei Heptylaminoleat in 6 Fällen eine erheblich stärkere Hämolyse der rasch hergestellten Verdünnung, während allerdings in 1 Falle das Gegenteil zutrifft.

Tabelle XXIV.

0,3 %iges stearinsaures Kali.

(I = rasche Verdünnung, II = langsame Verdünnung.)

Seifenmenge	Ziegenblut		Meerschweinchenblut		Kaninchenblut	
	I	II	I	II	I	II
1,0 1/10	komplett	komplett	—	—	komplett	komplett
0,9 "	f. kompl.	"	—	—	"	"
0,8 "	stark	"	komplett	komplett	"	"
0,7 "	mäßig	"	"	"	"	"
0,6 "	Spürchen	f. kompl.	"	"	"	"
0,5 "	0	mäßig	"	"	"	"
0,45 "	0	Spürchen	"	"	wenig	"
0,4 "	0	"	"	"	Spürchen	"
0,35 "	0	0	mäßig	"	0	"
0,3 "	0	0	Spürchen	mäßig	0	sehr wenig
0,25 "	—	—	0	0	0	0

Tabelle XXV.

1 °/₀ iges Caesiumoleat.

(I = rasche Verdünnung, II = langsame Verdünnung.)

Seifen-menge	Ziegenblut		Meerschweinchen-blut		Kaninchenblut	
	I	II	I	II	I	II
0,4 $^{1}/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,35 „	„	„	„	„	„	„
0,3 „	mäßig	stark	„	„	„	„
0,25 „	sehr wenig	sehr wenig	„	„	stark	f. kompl.
0,2 „	0	0	„	„	Spur	wenig
0,15 „	—	—	„	„	0	0
0,5 $^{1}/_{300}$			f. kompl.	f. kompl.		
0,4 „			stark	wenig		
0,3 „			0	0		

Tabelle XXVI.

1 °/₀ iges Heptylaminoleat.

(I = rasche Verdünnung, II = langsame Verdünnung.)

Seifen-menge	Ziegenblut		Meerschweinchen-blut		Kaninchenblut	
	I	II	I	II	I	II
0,3 $^{1}/_{100}$	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,25 „	„	„	„	„	„	„
0,2 „	„	„	„	„	„	stark
0,6 $^{1}/_{300}$	„	„	„	„	„	„
0,5 „	„	Spur	stark	„	wenig	Spur
0,4 „	0	0	mäßig	stark	Spur	0
0,3 „	0	0	„	mäßig	0	0
0,2 „	0	0	wenig	0	0	0

Aus unseren gesamten Versuchen geht hervor, daß die Gesetzmäßigkeiten, die das an und für sich interessante Verdünnungsphänomen beherrschen, keineswegs einfacher Natur sind, und daß das Verhalten der Extrakte bei der Komplementbindung nicht in einem klar zu erkennenden Verhältnis zu der Art der Verdünnung steht. Eine Abhängigkeit des Verhaltens bei der Komplementbindung von der Teilchengröße in den Extraktverdünnungen, wie es Sachs und Rondoni voraus-

setzen, scheint nicht zu bestehen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Art und Weise, in der die Verdünnung hergestellt wird, sowohl für das Aussehen der Extrakte, als auch für ihr Verhalten bei der Komplementbindung von Bedeutung ist, aber es hat weit eher den Anschein, als ob hier zwei Vorgänge unbekannter Art in Frage kommen, die voneinander unabhängig sind. Daß es sich hier vielleicht doch nicht um rein physikalische Unterschiede handelt, dafür sprechen bis zu einem gewissen Grade die Verhältnisse bei der Hämolyse. Hier sind im Gegensatz zu den Angaben von Sachs und Rondoni und zu der Bestätigung durch Kiß Differenzen vorhanden, die bei einer einigermaßen feinen Abstufung der Versuche klar hervortreten. Bei den Extrakten gehen sie alle in einer Richtung, indem die rasch verdünnten Extrakte stärker hämolytisch wirken als die langsam verdünnten. Wenn man auch geneigt wäre, hier einen direkten Zusammenhang mit dem physikalischen Verhalten der Verdünnungen herzustellen, so wird man zur Vorsicht gemahnt durch das Verhalten der reinen Seifenlösungen, bei denen einmal die rasch verdünnten, ein andermal die langsam verdünnten Lösungen stärker hämolytisch wirken. Das spricht dafür, daß vielleicht doch chemische Unterschiede maßgebend sind, deren Bedingungen wir allerdings nicht kennen. Wenn man aber bedenkt, daß nach den Untersuchungen von Krafft und seinen Mitarbeitern die Seifen in wässerigen Lösungen leicht weitgehenden Veränderungen (Bildung saurer Seifen durch Hydrolyse) unterliegen, so ist man geneigt, die Ursache für die gefundenen Differenzen nicht nur in der physikalischen, sondern auch in der chemischen Richtung zu suchen. Wir nehmen mit Sachs und Altmann[1]), gestützt auf die im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen von Heßberg[2]), an, daß den Seifen für das Zustandekommen der Wassermannschen Reaktion maßgebende Bedeutung zukommt. Es liegt aber durchaus im Bereiche der Möglichkeit, daß die Beimengungen, die die Seifenlösungen erst brauchbar zur Wassermannschen Reaktion machen, den chemischen Charakter derselben günstig beeinflussen.

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 10.
[2]) Diese Zeitschr. 1909.

Für die Praxis der Wassermannschen Reaktion ergibt sich aus unseren Befunden die Forderung, in der Auswahl der Extrakte die größte Sorgfalt walten zu lassen. Die einfachste praktische Konsequenz, die aus unseren Beobachtungen zu ziehen ist, ist die, daß man die Extrakte auf beiderlei Arten verdünnt und die Einstellung mit beiden Verdünnungen vornimmt. Geeignet sind dann solche Extrakte, bei denen die Differenzen unterhalb der praktisch zur Anwendung gelangenden Mengen liegen.

Wir verwenden selbst solche Extrakte, die langsam verdünnt schärfere Resultate geben, und stellen Verdünnungen vor dem Gebrauch dementsprechend her.

Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophanthinwirkung.

Von

Walther Straub.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

(Eingegangen am 29. August 1910.)

Mit 10 Figuren im Text.

Die Wirkung der sog. Digitalisgluooside ist von ausgesprochener Spezifität, es sind Gifte, die bei natürlicher Verteilung im Körper in allererster Linie ihre Affinität zum Ventrikel sättigen, erst nach diesem die anderen Herzabschnitte ergreifen und auch zu den Gefäßen eine Affinität besitzen, weit geringer als die zum Ventrikel. Die wirksamen Digitalisdosen sind vergleichsweise außerordentlich gering, und die einmal eingetretene Wirkung ist von einer Dauerhaftigkeit, wie bei kaum einem der pharmakologisch analysierbaren Körper.

Meine Erfahrungen und Studien über die chemischen Mechanismen der Alkaloidwirkungen führten zu dem Schlusse, daß bei und zur Wirkung die Alkaloide durch einen reversiblen chemischen Vorgang im Organ der Spezifität angehäuft werden, die Alkaloidwirkung also schließlich eine Art Narkose ist. Ähnlich könnte es auch mit dem Mechanismus der Digitalisglucoside liegen, mit der Besonderheit vielleicht, daß diese Reaktion der Irreversibilität noch näher liegt wie die Alkaloidreaktion mit dem spezifischen Organ.

Die Alkaloide kann man aus den isolierten vergifteten Organen durch einfaches Waschen wiedergewinnen und durch besondere Methoden ihre Mengen messen. Es ist die naheliegende Vorfrage einer analogen Untersuchung an Digitaliskörpern, festzustellen, ob auch diese aus dem vergifteten Organe wieder gewonnen werden können.

Vergiftet man ein ausgeschnittenes Herz mit Digitalisglucosid bis zu den stärksten Wirkungsgraden, so ist es unter keinen Umständen möglich, aus diesem Herzen oder aus mehreren zusammen eine solche Menge Gift wiederzugewinnen, die an einem normalen ausgeschnittenen Herzen auch nur eine Andeutung von Wirkung machte.[1]) Ich habe dieses wichtige negative Resultat nach mehreren Richtungen festgelegt, z. B. die Herzen kiloschwerer Haifische in Arbeit genommen, immer mit demselben Mißerfolg.

Damit ist der Weg verschlossen, der bei der Erforschung des Wirkungsmechanismus der Alkaloide zum Ziele führte. Andererseits ist aber damit den Glucosiden ein prinzipiell anderer Wirkungsmechanismus vorgeschrieben wie den Alkaloiden. Es muß eine ganz andere Art chemischer Reaktion sein, die die Digitaliswirkung beherrscht, und die nächstliegende Annahme ist die einer wirklichen Irreversibilität durch Bildung eines Reaktionsproduktes zwischen dem Glucosidmodekül und einem Bestandteil des Herzmuskels.

Gegen diese Vorstellung ist aber a priori einzuwenden, daß man die chemischen Fähigkeiten der Glucoside so ungefähr beurteilen kann und daß man sich schwer vorstellen kann, welche Art von kochbeständigen Verbindungen mit Organismusmaterial ein Digitalisglucosid soll eingehen können.

Überhaupt liegt die Hypothese einer chemischen Verbindung des Giftes mit Zellbestandteilen zur Wirkung manchen Autoren sehr leicht zur Hand. Auch zur Erklärung der Alkaloidwirkung wird sie gern benutzt. Man erinnere sich aber doch der so mannigfaltigen Konstitutionen der Alkaloide, z. B. des Adrenalins, Cocains, Nicotins, Atropins u. a. m., die alle chemisch und mit verschiedenen, weil spezifischen, Organismusbestandteilen in reversibler Weise — die gewöhnliche Salzbildung mit den Alkaloidbasen kommt als nicht spezifisch nicht in Betracht — reagieren müßten — ich muß gestehen, daß ich weder die Organismusbestandteile noch die „Receptoren“ an den Alkaloidmolekülen namhaft machen könnte. Es wird gut sein, ehe man sich zur Annahme einer rein chemischen Verbindung eines Giftes mit Zellbestandteilen entschließt, vorher recht gründlich die anderen Möglichkeiten zur Erklärung einer Giftwirkung zu studieren.

---

[1]) Beim Auskochen vergifteter Herzen bekommt man Extrakte von Digitaliswirkung (systolischer Stillstand am Probeherzen), die aber nicht spezifisch ist, denn sie ist in gleicher Weise mit Extrakten normaler Herzen zu erhalten.

Die Unmöglichkeit des Nachweises von Digitalisglucosid im vergifteten Herzen schließt eine Aufspeicherung bei der Wirkung nicht aus, im Gegenteil muß diese durch einen irreversiblen Prozeß besonders hohe Grade erreichen können. Diesen Grad der eventuellen Speicherung zu messen, ist der nächste Weg, der zum Einblick in die Vorgänge bei der Digitaliswirkung führen kann. Die vorliegende Untersuchung ging von solchen Überlegungen aus, hat aber allerdings zu ganz anderen, unerwarteten Resultaten geführt.

Methodik.

Da das im Herzen befindliche Glucosid nicht mehr zurückgewonnen werden kann, ist seine Menge nur als Differenz zwischen dem ursprünglich verwandten und dem nach eingetretener Wirkung noch in der Speiseflüssigkeit überschüssigen Glucosid zu bestimmen.

Es ist klar, daß die Feststellung der am spezifischen Element wirksamen Menge auch von grundlegender Bedeutung für die in neuerer Zeit aktuell gewordene physiologische Wertbestimmung von Digitalisdrogen und galenischen Präparaten sein muß, und daß die Methode, mit der diese zunächst rein theoretische Frage bearbeitet wird, schließlich auch diejenige der theoretisch richtigen Wertbestimmung sein wird, falls man nicht das praktische Ziel auf rein empirischem Wege — wie dies z. B. Focke[1]) tut — zu erreichen sucht.

Das Mittel zur Messung der kleinen Mengen Digitalisglucosid muß natürlich das ausgeschnittene Froschherz sein, für das ein Maßstab der Wirkungsgrade erst festzulegen ist, die spezielle Anordnung des Versuchs muß diejenige sein, in der das Herz am meisten geschont ist.

Ich verwandte auch zu dieser Untersuchung jene sehr einfache, seit vielen Jahren von mir und meinen Mitarbeitern erprobte und oftmals publizierte „Methode", die gestattet, den Herzventrikel mit einem Minimum von Flüssigkeit in Wechselwirkung zu bringen. Sie besteht darin, daß ein Kanülentrichter, wie in Fig. 1 in natürlicher Größe reproduziert, mit dem Ansatz *K* durch die Aorta in den Ventrikel eingeführt wird; der Trichter wird mit 1 ccm Ringerscher Lösung gefüllt, alles von der Präparation noch im Ventrikel gebliebene Blut wird genau ausgewaschen, sodaß schließlich der Ventrikel nur mehr gegen eine durch einige Blutkörperchen getrübte wässerige Lösung arbeitet. Die genaue Entfernung des Blutes ist wichtig, weil das Froschblut auch noch in starker Verdünnung gerinnt und die Kanüle verstopfen kann. Die seit-

[1]) C. Focke, Arch. d. Pharm. 1910, 5. Heft, 248.

liche Anordnung der Aortenkanüle ermöglicht einmal eine gründliche Mischung durch Strömung in der Richtung der Pfeile, die beobachtet werden kann, dann aber ist dadurch der hydrostatische Druck, der dauernd auf dem Ventrikel lastet, auf das Minimum von 2 bis 3 cm aq. reduziert, was bei lange dauernden Versuchen von Wichtigkeit ist. *S* ist eine Capillare durch die im langsamen Strome — eine Blase pro Sekunde — Sauerstoff oder Luft durch die zu prüfende Flüssigkeit perlt. Diese von Fühner[1]) eingeführte Ventilation ist wichtig, denn ihr ist es zu danken, daß die Herzen selbst bei 26° C Zimmertemperatur 48 Stunden und länger ihre volle Gebrauchsfähigkeit behalten. Die Trichterkanüle ist in einer feuchten Kammer befestigt, die Vertikalbewegungen der Herzspitze werden unter mäßiger Vergrößerung durch Klemme und Faden, auf einen fast gewichtslosen Hebel übertragen — wie das dieser Engelmannschen Methodik entspricht. Man arbeitet auf diese Weise allein mit dem Ventrikel, der Vorhof nebst Sinus und Venen hängt als leerer Sack nebenbei und gibt in dieser Position den Ton an. Das Herz verliert so im allgemeinen nie einen Tropfen seines Inhaltes, eine Unterbindung von Hohlvenen ist ganz unnötig. Als Versuchstiere sind in dieser Untersuchung wie in fast allen früheren Esculenten verwendet, ich habe nie finden können, daß sie schlechter wären wie Grasfrösche, und kann die Forderung Schmiedebergs[2]), nur Temporarien zu verwenden, nach meinen nicht spärlichen Erfahrungen nicht anerkennen. Grasfrösche haben jedenfalls den Nachteil der Kleinheit und schwereren Beschaffbarkeit.

Fig. 1.

Von der Verwendung eines künstlichen Kreislaufes, etwa des für pharmakologische Zwecke sonst so beliebten Apparates von Williams, sehe ich mit voller Überlegung ab.

Einmal hat so ein Kreislauf ohne Organe für ein Problem chemischer Fragestellung keinen Zweck, und ferner ist dieser spezielle Kreislauf mit sehr vielen Fehlern behaftet. Man kann unter einen venösen Druck von 10 cm aq nicht gut herunter gehen, dieser lastet dauernd auf dem Ventrikel — der entsprechende normale Vorhofsdruck ist etwa 2 bis 3 cm aq, und lastet nur ganz kurze Zeit auf den Ventrikelwänden. die Folge ist, daß der Ventrikel überanstrengt wird, was sich schon darin zeigt, daß das Präparat nur in seltenen Fällen länger als 5 bis 10 Stunden schlägt, und alle Folgen von Gifteinwirkungen mit langsam wirkenden Grenzdosen unsicher zu beobachten sind. Ein besonderer Übelstand liegt in der Art der graphischen Registrierung der Druck-

[1]) H. Fühner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 59, 181, 1908.

[2]) A. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1910, 62.

oder Volumpulse. Die Kritik der Druckpulse mit diesem Apparat ist von Frank[1]) gegeben, die Volumpulse lassen feinere Unterschiede nicht zur Registrierung gelangen, da fast alle Herzarbeit zur Bewegung der trägen Übertragungsmassen verbraucht wird, was abermals das Herz überanstrengt. Endlich ist die Einsperrung des Ventrikels in einen Plethysmographen zur Volumschreibung ein Ventilationshindernis und Veranlassung für allerlei Störungen; wie wichtig aber eine ausreichende Ventilation selbst beim minimal arbeitenden Herzen ist, hat sich gerade bei meiner oben beschriebenen Methode gezeigt. Die immer vorgeschriebene Speisung des Apparates mit Kalbs-, Kaninchenblut, Gummilösung kann vielleicht die in der Konstruktion liegenden Fehler, besonders der schlechten Ventilation, etwas übertünchen, eine innere Berechtigung haben sie aber nicht, sie mögen qualitative Wirkungen von Giften nicht stören, aber quantitative Messungen müssen in reinen Lösungen ausgeführt werden. Speziell für den vorliegenden Zweck verbot sich der Apparat wegen des viel zu großen Flüssigkeitsballastes, der mitgeschleppt werden muß. Für eine klare Fragestellung taugt nur eine klare, schematische Apparatur, und das ist der Williamsapparat weder in physikalischer noch in chemischer Hinsicht.

Versuche.

1. Feststellung einer Wirksamkeitsskala.

Zur Verwendung kam ausschließlich Strophanthin cryst. von Merck, ein Präparat, das am ganzen Tier nach orientierenden Versuchen dieselbe Wirksamkeit hatte wie die sonstigen Strophanthine des Handels. Vorrätig gehalten wurde eine Lösung von 0,2°/₀₀ und von dieser die Arbeitslösungen für jede Serie frisch hergestellt.

Das Kymographium wurde auf sehr langsamen Gang gestellt, 1 cm in 5 Minuten; dabei sind die einzelnen Pulse nicht mehr als distinkte Striche zu sehen, wenigstens nicht im normalen Rhythmus, doch kommen so die systolischen Effekte der einzelnen Dosen erst deutlich zum Ausdruck. Die Herzen schlugen sehr frequent, ca. 80 Schläge pro Minute bei 22 bis 27° C Zimmertemperatur im August dieses Jahres.

1. Bringt man in das System, bestehend aus dem Ventrikel und genau 1,00 ccm Ringerlösung, 0,05 mg Strophanthin (Fig. 2), so beginnt die systolische Wirkung fast sofort, nach 3,5 Minuten ist maximaler systolischer Stillstand erreicht, das Herz ist tot,

---

[1]) O. Frank, Zeitschr. f. Biol. 32, 1895 und Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morph. u. Physiol. in München, 1897, Heft II.

der Schreibhebel sinkt durch sein Gewicht unter Dehnung des Ventrikels langsam wieder ab. Diese Wirkung ist übermaximal.

Fig. 2.

2. (Fig. 3.) Wirkung von 0,01 mg. Langsamere Entwicklung einer nicht maximalen systolischen Contractur, die Pulsationen bestehen etwas länger wie in 1. Durch Einpressen von Füllflüssigkeit in den Ventrikel wird wieder für kurze Zeit ein Rhythmus erzielt (D = Dehnung in der Figur), dessen einzelne

Fig. 3.

Pulse sich anfangs superponieren, später wieder herabrücken und in der Figur wegen ihrer Kleinheit eine einzige, langgestreckte Tonusschwankung vortäuschen. Dies läßt sich einige Male wiederholen, ohne daß damit ein dauernder Rhythmus wieder erzielt werden könnte. Schließlich wird die Giftlösung entfernt und durch frischen Ringer ersetzt (W = Waschen in der Figur), auch bei mehrmaliger Wiederholung wird ein neuer Rhythmus nicht erzielt, das Herz ist tot.

Diesen Wirkungsgrad nenne ich Stufe 1.

3. Wie oben, aber vergiftet mit 0,005 mg in 1 ccm Füllflüssigkeit (Fig. 4). Lange bestehender Spontanrhythmus, Dehnung wirkt intensiver wie bei 2. Durch Wechsel der Gift-

lösung gegen Ringer beginnt sofort Spontanrhythmus, der aber aussetzend ist und nur im Maximum $^1/_4$ der Normalfrequenz erreicht; auch eine zweite Waschung ändert nichts daran, das Herz ist also dauernd geschädigt, wie die stundenlange Beobachtung ergab. Stufe 2.

Fig. 4.

Die Schwankungen des Tonus im Spontanrhythmus (bei x in der Figur) sind gesetzmäßig. Die erste Abwärtsbewegung der Kurvenschar ist die Folge der Frequenzhalbierung. Während der verlängerten Diastolen dehnt sich der Ventrikel mehr, die Contractur löst sich bis zu einem gewissen Grade, die Contracturwirkung durch Strophanthin schreitet aber weiter, die Kurve hat einen Umkehrpunkt, eine neuerliche Frequenzreduktion wiederholt das Spiel. Wie sehr gesetzmäßig diese Erscheinung für die Stufe 2 ist, zeigt die Fig. 8b, die an einem anderen Tage an einem anderen Herzen mit der gleichen Dosis gewonnen ist und wie „nach Vorlage gearbeitet" mit Fig. 4 verglichen aussieht.

4. Wie oben, aber 0,0025 mg Strophanthin. (Fig. 5.) Länger dauernder Spontanrhythmus, geringe Contracturwirkung, bei x Frequenzverminderungen. Dehnungen von besserem Erfolg, nach Waschen sofort wieder Rhythmus, der nach dreimaligem Wechsel der Füllflüssigkeit zur alten Frequenz führt. Das Herz wurde noch weitere 27 Stunden beobachtet, der Rhythmus war während dieser Zeit ungestört. Stufe 3.

Diese Strophanthinwirkung ist also durch Waschen völlig zu heben.

5. Wie oben, aber 0,00125 mg Strophanthin im System (Fig. 6). Der Spontanrhythmus verschwindet nicht mehr, die

Frequenzminderung erhöht die Systolengipfel.[1]) Wechsel der Giftlösung bringt sofort und dauernd den alten normalen Rhythmus (19 Stunden weiter beobachtet). Die Contracturwirkung nur minimal ausgeprägt. Stufe 4.

Giftmengen unter 0,00125 mg machen noch geringere Abschwächung der Systolenhöhen, keine Contractur und in ganz minimalen Dosen lediglich die Halbierung unter Steigerung der Hubhöhen. Es ist dies die Grenze der sog. therapeutischen Digitaliswirkung, bei der die Pulsvolumina und die Maxima der isometrischen Kurven vergrößert sind, wie an anderem Orte[2]) ausführlich von mir erörtert. Als Maßstab genügen die vier oben scharf gekennzeichneten Punkte.

Der Maßstab ist bis zu gewissem Grade relativ für meine spezielle Anordnung des Schreibhebels, der Temperatur, der Füllung usw., man wird für andere Verhältnisse vielleicht einen anderen Maßstab ermitteln, aber unter sich verhalten sich die Stufen, wie ich durch Kontrolle feststellte, mit genügender Schärfe im Verhältnis von $1 : {}^1/_2 : {}^1/_4 : {}^1/_8$. Mit diesem Maßstabe habe ich die Messungen durchgeführt. Zuvor aber noch einige Bemerkungen.

Aus der Entwicklung des Vergiftungsbildes ist Wichtiges für das Verständnis der Herzstillstände unter Digitaliswirkung zu entnehmen, so zunächst, daß sich der systolische Stillstand der maximalen Digitaliswirkung aus Rück-

Fig. 5.

[1]) Zur Erklärung dieser und ähnlicher Erscheinungen siehe W. Straub, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 45, 346 ff., 1901.

[2]) W. Straub, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1.

standscontracturen[1]) entwickelt, und daß der Prozeß, der dem endlichen Stillstand zugrunde liegt, auch dann vor sich geht, wenn es nicht zur Ausbildung eines typischen systolischen Stillstandes kommt. Die Fig. 7 stellt photographische Vergrößerungen der in den Fig. 2 bis 6 registrierten systolischen Wirkungen dar und zeigt, wie Geschwindigkeit der Entwicklung und Höhe der erreichten Maxima proportional der Giftmenge sind. Es zeigt sich aber auch, daß nur die starken Vergiftungen (Fig. 1) so rasch verlaufen, daß die tonische Contractur bis auf Gipfelhöhe der Normalsystole rückt; bei Ver-

Fig. 6.

giftungen geringerer Intensität wird auch eine fortschreitende Verminderung der Hubhöhen bemerkbar. Diese letztere Erscheinung kann bei geeigneter Dosierung derart überwiegen (Fig. 6), daß schließlich die Hubhöhe Null erreicht wird, und das ist dann der sog. diastolische Stillstand. Nach der Nomenklatur der allgemeinen Herzphysiologie ist dieser Stillstand die Folge einer maximal gewordenen negativ-inotropen Wirkung.

Damit dürfte der diastolische Stillstand als Erscheinung sui generis erledigt sein. Die ihm zuliebe aufgestellte Hypothese von der prinzipiell verschiedenen Digitalisempfindlichkeit innerer und äußerer Muskelschichten ist schon durch N. Werschinins[2]) Untersuchungen, der fand, daß bei geeigneter Dosierung auch bei Applikation von innen diastolischer Stillstand eintreten kann, unhaltbar geworden. Es ist ja auch ganz selbstverständlich, daß eine Giftlösung außen schwächer und langsamer wirkt als innen im Herzen, konform der viel

[1]) Darauf habe ich schon in meiner Antiarinarbeit hingewiesen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 45, 355, 1901.

[2]) N. Werschinin, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 328ff., 1909.

größeren Innenfläche des Ventrikels[1]) und den äußeren Resorptionshindernissen des Visceralperikards. Daß überhaupt der Erscheinung des diastolischen Ventrikelstillstandes Bedeutung beigemessen werden konnte, ist die Folge der Mangelhaftigkeit der Registrierung an künstlichen Kreisläufen, speziell am Williamsapparat, die die tatsächlichen Längenänderungen des Muskelelementes nur äußerst entstellt wiedergibt.

I
II
III
IV

Fig. 7.

2. Messungen.

Zur Feststellung der für die einzelnen Wirkungsgrade tatsächlich verbrauchten Strophanthinmengen ging ich in der Weise vor, daß ich ein System Herzmuskel + Giftlösung der Stufe 1 bis 4 bis zum Maximum der zu erwartenden Wirkung in Betrieb hielt. Dann wurde die Giftlösung entfernt (mit einer in $^1/_{20}$ ccm geteilten Luerschen Spritze) und einstweilen beiseite gelegt. Das vergiftete Herz wurde mit frischem Ringer gefüllt und so kontrolliert, ob auch die Erholung in der für die Wirkungsstufe zu erwartenden Weise verläuft oder ausbleibt, was immer der Fall war. War die Beobachtung des ersten Herzens beendet, so wurde an dieselbe Kanüle ein neues Herz gebunden und dieses gespeist mit der Hälfte (also 0,5 ccm) der aus dem ersten System entnommenen Strophanthinlösung, die mit 0,5 ccm Ringerlösung auf das Volum 1,0 ccm gebracht wurde.

[1]) E. Gaupp, Anatomie des Frosches, 4, 255.

Resultat:

1. Wirkungsstufe 1 am ersten Herzen (Fig. 8a). Die Hälfte der Giftringerlösung macht am zweiten Herzen die Wirkungsstufe 2 (Fig. 8b). Die ganze Menge, die am ersten Herzen Wirkungsstufe 1 machte, würde also auch das zweite Herz zur Stufe 1 vergiftet haben, denn Stufe 2 = $^1/_2$ Stufe 1.

Fig. 8a.

Fig. 8b.

2. Desgleichen in der zweiten Reihe. Wirkung von 0,005 mg = Stufe 2. Effekt von 0,5 der Füllflüssigkeit des ersten Herzens = Stufe 3 oder Wirksamkeit des Gesamtinhaltes = Stufe 2.

3. Das gleiche Resultat hatte der Versuch mit Stufe 3 und

4. mit Stufe 4 (Fig. 9a und 9b); die Fig. 9b zeigt außerdem die Wirkung von 0,00006 mg, die bei der Skalenfeststellung oben nicht mehr ermittelt wurde, nämlich geringe Abschwächung der Systolenhöhen, geringe Contractur, keine Rhythmushalbierung und sofortige Erholung zur Normaltätigkeit nach Waschung.

Diese Versuche hatten also das völlig unerwartete Resultat, daß bei der Strophanthinwirkung ein mit dem gewählten Maßstab nachweisbarer Verbrauch von Gift nicht stattfindet, daß also jedenfalls eine Speicherung

wie bei der Alkaloidwirkung nicht die Unterlage der Wirkung oder die Erklärung der Spezifität sein kann. Als positives Resultat folgt aus den Messungen, daß die physiologische Intensität der Strophanthinwirkung von der Konzentration des Glucosids in der den Ventrikel umspülenden Flüssigkeit bedingt und dieser proportional ist.[1])

Fig. 9a.

Fig. 9b.

Die Ermittlung des Wirkungsmechanismus des Digitalisglucosids ist auf dem Wege einfacher Analyse nicht möglich, der Vorgang selbst ist jedenfalls viel verwickelter wie bei Alkaloiden.

Das obige Resultat schließt eine Aufspeicherung eindeutig aus, andererseits kann man aber unmöglich annehmen, daß gar

[1]) Schmiedeberg schreibt l. c. S. 310: „. . . Nach weiter unten mitgeteilten Versuchen ist die Digitaliswirkung nicht von der absoluten Giftmenge, sondern lediglich von der Giftkonzentration abhängig.“ Ich habe in der Arbeit die Beweise für die Behauptung nicht finden können. Die Beobachtung, daß ein und dieselbe Giftlösung von 50 ccm Volum mit einem absoluten Giftüberschuß mehrere Herzen nacheinander maximal vergiftet (S. 317), ist für eine so prinzipielle Folgerung nicht zu verwerten. Der Beweis der Richtigkeit der Schmiedebergschen Vermutung dürfte erst durch meine Messungen erbracht sein.

kein Verbrauch von Giftmaterial stattfindet bei einer Reaktion, die physiologisch zur völligen Zerstörung des Ventrikels führen kann. Ich habe deshalb versucht, den zu fordernden geringen Verbrauch durch Aufbrauchsversuche festzustellen, indem ich eine einzige Giftlösung der Wirksamkeitsstufe 2 nacheinander in frische Herzen brachte, so lange, bis eine meßbare Abschwächung der Lösung eintrat. Dazu waren 6 Ventrikel nötig. Da meine Kanüle nur 0,012 ccm toten Raum hatte, konnte der Versuch so weit exakt durchgeführt werden, daß das sechste Herz noch mit 0,9 ccm oder 90% des Ausgangsvolums gefüllt werden konnte.

Dabei ergab sich nun, daß die Wirksamkeit der Lösung im Laufe der 6 Vergiftungen von Stufe 3 auf 4 sank (Fig. 10a und 10b), entsprechend einem Verbrauch von

$$0{,}0025 - 0{,}00125 = 0{,}00125 \text{ mg}$$

oder pro Herz 0,0002 mg, Mengen, die sich allerdings bei meinem Maßstabe der Messung entziehen mußten.

Fig. 10a.

Fig. 10b.

Analoge Erschöpfungsversuche wurden in letzter Zeit von Krailsheimer[1]) mit einigen Digitaliskörpern angestellt, sie konnten, da mit 0,2 mg Strophanthin in 50 ccm Flüssigkeit angestellt, natürlich zu keinem Resultate führen.

[1]) R. Krailsheimer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, 296, 1910.

Ich habe die Trockengewichte einiger Ventrikel, nicht der ganzen Herzen, bestimmt:

Frosch	wiegt	lebend	1.	65 g,	sein	trockner	Ventrikel	0,014 g
„	„	„	2.	74 g,	„	„	„	0,018 g
„	„	„	3.	68 g,	„	„	„	0,018 g
„	„	„	4.	67 g,	„	„	„	0,012 g
„	„	„	5.	60 g,	„	„	„	0,015 g
„	„	„	6.	74 g,	„	„	„	0,019 g
„	„	„	7.	67 g,	„	„	„	0,016 g

also durchschnittlich 0,016 g. Diese 0,016 g nehmen also aus der 0,0005 ⁰/₀igen Strophanthinlösung 0,0002 mg oder rund 0,001 ⁰/₀ ihres eigenen Gewichtes Glucosid auf.

Natürlich gilt der Wert 0,0002 mg pro Ventrikel nur für den ganz speziellen Fall der Aufnahme aus der Anfangskonzentration 0,025 mg in 1,0 ccm, es ist anzunehmen, daß den höheren Wirkungsgraden ein entsprechend größeres Quantum entspricht, das aber immer noch unterhalb der direkten Nachweisbarkeit liegt.

Als endliches Resultat meiner Messungen hat sich also herausgestellt, daß bei der Strophanthinreaktion mit den Ventrikelzellen die physiologische Reaktion proportional der Konzentration ist, in der das Strophanthin die Herzelemente umgibt, dabei findet eine chemische Reaktion zwischen einem Zellbestandteile und dem Glucosid statt unter Verbrauch einer jedenfalls sehr kleinen absoluten Menge des letzteren; diese Reaktion ist die primäre Reaktion des Vergiftungsvorgangs. In ihre chemischen Eigentümlichkeiten lassen die Messungen keinen Einblick, die Beobachtung ergibt aber, daß die geringgradigen Folgen derselben allein durch Ersatz der Giftlösung durch Ringerlösung behoben werden können, die Reaktion ist also mit aller Wahrscheinlichkeit prinzipiell reversibel, und der bei höheren Konzentrationen eintretende unabwendbare Herztod wird die Folge unbekannter Sekundärvorgänge sein.

Interessant ist es, daß die gleichen Konzentrationen bei Verschiedenheit der Volumina der Giftlösungen auch von anderen Autoren als Grenzwerte gefunden wurden. Z. B. fand P. Trendelenburg[1]) 0,006 mg Stro-

[1]) P. Trendelenburg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1909.

phanthin in 2 ccm Ringer, Krailsheimer, l. c., 0,2 mg Strophanthin in 50 ccm Gummilösung oder 0,008 mg in 2 ccm, eine indirekte Bestätigung der oben vorgetragenen Meinung, daß die Strophanthinwirkung von der Giftkonzentration beherrscht wird.[1])

Nunmehr klärt sich auch das eingangs mitgeteilte negative Resultat der auf Auswaschen des Giftes aus getöteten Herzen abzielenden Versuche, denn — es ist nichts vorhanden, was ausgewaschen werden könnte!

Soweit die Tatsachen und die nächste zwingende Schlußfolgerung; eine chemische Theorie der Digitaliswirkung ist noch nicht möglich, aber einige Vermutungen über die Wirkungsart möchte ich doch nicht unterdrücken.

Die physiologische Strophanthusreaktion ist nicht die Folge einer Speicherung, aber doch von der Konzentration beherrscht und doch treten Massen in Wechselwirkung. Wie reimt sich das zusammen? Da ist es naheliegend, einen rein lokalen Charakter der Reaktion anzunehmen, ein Eindringen ins Innere der Ventrikelzellen abzuweisen und wie bei der Adstringierung nur an der Grenzschicht eine fast irreversible Reaktion zu suchen. Die Vermutung ist nicht aus der Luft gegriffen. Die Digitalisglucoside sind im chemischen Sinne nahe verwandt mit ausgesprochenen Grenzschichtgiften, den cytolytisch und hämolytisch wirksamen Saponinglucosiden, das Helleboreïn ist geradezu der Übergang von den Saponinen zu den echten Digitalisglucosiden. Dabei sind die Saponine nur bei herzferner Applikation nicht Herzgifte, direkt in den Ventrikel gebracht, veranlassen sie (z. B. Quillajasaponin oder das Digitalissaponin Digitonin) denselben systolischen Stillstand wie irgend ein echtes Digitalisglucosid. Die Spezifität der Digitaliswirkung läge dann darin, daß nur die Oberfläche der Herzmuskelzellen, nicht aber im gleichen Maße auch andere Organismuszellen mit dem Digitaliskörper reagiert.

Bemerkungen zu den Methoden physiologischer Wertbestimmung von Digitalisblättern.

Nach den bisherigen Ausführungen ist das gegebene Instrument zur Messung der ausgeschnittene Ventrikel; wenn

[1]) Es ist mir unverständlich, wie Krailsheimer die dasselbe Problem behandelnde, 1 Jahr früher im selben Archiv erschienene Arbeit Trendelenburgs ignorieren konnte.

alle Digitalisglucoside ihre Wirkung proportional ihrer Konzentration entfalten — und es ist zunächst nicht einzusehen, daß sie es nicht tun sollten —, so ist der Wunsch und Vorschlag Schmiedebergs, die Wirksamkeit eines Infuses von unbekanntem Gehalt auf den Standardwert einer bekannten Strophanthinlösung einzustellen, berechtigt. Ob man an einem künstlichen Kreislauf mit mangelhafter Registrierung die Zeit bis zum Eintritt des Stillstandes als Vergleichswert wählt oder nach meiner Methodik die Infuskonzentration sucht, die auch nach erfolglosen Auswaschversuschen eben gerade den Ventrikel tötet, wird für die Praxis wenig Unterschied bedeuten; für richtiger weil schärfer halte ich meine Methode. Nach Versuchen von Karaulow, die demnächst publiziert werden sollen, sind die im Infus enthaltenen, nicht spezifischen Bestandteile kein Hindernis der Meßbarkeit der physiologischen Digitaliswirkung.

Die bisher übliche von Focke, l. c., ausgearbeitete Meßmethode arbeitet mit dem ganzen Tier unter Resorption des Giftes von den Lymphsäcken aus. Das Maximum einer derartig veranlaßten Wirkung wird dem Maximum an Giftkonzentration entsprechen, das während der Resorption im Blute einmal geherrscht hat. Deshalb ist der springende Punkt der Fockeschen Methodik die Konstanterhaltung der Resorption, und alle Forderungen, wie Konstanz des Tiergewichtes und Geschlechtes, des Frischezustandes, der Temperatur, des Volums der zu injizierenden Lösungen u. a. m., die Focke empirisch aufstellt, von diesem einen Gesichtspunkte aus verständlich und berechtigt.

Ich habe über die Fockesche Methode keine eigenen Erfahrungen, zweifle aber nicht, daß sie in der Hand ihres erfahrenen Autors richtige Resultate gibt, ob allerdings zwei oder mehr Untersucher in gleicher Weise die die Resorption beherrschenden Konstanten meistern werden, ist mir zweifelhaft.

Ich möchte vermuten, daß für die Schaffung einigermaßen absoluter Werte doch das ausgeschnittene Organ mehr leisten kann, und würde es begrüßen, wenn speziell die in dieser Arbeit verwandte Methode auf ihre praktische Brauchbarkeit hin wenigstens einmal geprüft würde.

Über δ-Emulsin.

Von

L. Rosenthaler.

(Aus dem pharmazeutischen Institut der Universität Straßburg i. E.)

(*Eingegangen am 5. September 1910.*)

Die Spaltung des Amygdalins, die unter dem Einfluß des von mir bisher als δ-Emulsin[1]) bezeichneten Präparates vor sich geht, verläuft nach dem bisher Bekannten wahrscheinlich in drei Stadien:

$$1.\ \underset{\text{Amygdalin}}{C_6H_5.CH{<}^{CN}_{O.C_6H_{10}O_4.O.C_6H_{11}O_5}} + H_2O = \underset{\text{Mandelsäurenitrilglucosid}}{C_6H_5CH{<}^{CN}_{O.C_6H_{11}O_5}} + \underset{\alpha\text{-Glucose}}{C_6H_{12}O_6}$$

$$2.\ \underset{\text{Mandelsäurenitrilglucosid}}{C_6H_5CH{<}^{CN}_{O.C_6H_{11}O_5}} + H_2O = \underset{\text{Mandelsäurenitril (d-Benzaldehydcyanhydrin)}}{C_6H_5CH{<}^{CN}_{OH}} + \underset{\beta\text{-Glucose}}{C_6H_{12}O_6}$$

$$3.\ \underset{\text{Mandelsäurenitril (d-Benzaldehydcyanhydrin)}}{C_6H_5CH{<}^{CN}_{OH}} = \underset{\text{Benzaldehyd}}{C_6H_5CHO} + \underset{\text{Blausäure}}{HCN}$$

Von diesen drei Vorgängen sind die beiden ersten hydrolytische Spaltungen; der dritte verläuft ohne Eintritt von Wasser. Es schien deshalb möglich, daß er durch ein besonderes Enzym verursacht wird, dem eine hydrolysierende Fähigkeit nicht zukommt. Da dieses Enzym, sei es dadurch, daß es d-Nitril rascher spaltet als l-Nitril, oder dadurch, daß

---

[1]) Diese Zeitschr. 14, 249, 1908 und 26, 1, 1910.

es letzteres ganz unangegriffen läßt, die Wirkung besitzt, r-Benzaldehydcyanhydrin so zu spalten, daß l-Nitril auftritt,[1]) so kann aus dem Eintreten dieser Reaktion auf die Anwesenheit des in Frage stehenden Enzyms geschlossen werden. Seine Isolierung muß dann als geglückt bezeichnet werden, wenn ein Präparat, das diese Wirkung zeigt, Amygdalin nicht mehr spaltet. Ein derartiges Präparat erhielt ich, als ich eine 5%ige Lösung des Emulsins (Schuchardt) 10 Stunden lang auf 60 bis 65° erhitzte. Die nitrilspaltende Wirkung ist zwar dann nur noch schwach, nach der Überführung in Mandelsäure war aber immer deutliche Rechtsdrehung zu beobachten. Dies geht z. B. aus folgendem Versuch hervor: 20 g einer 5%igen Emulsinlösung, die 10 Stunden auf 60° erhitzt war, wurden mit 5 g Benzaldehydcyanhydrin, 10 g Weingeist und 80 g Wasser gemischt, und dann unter häufigem Umschütteln Luft hindurchgeleitet. Nach 24 Stunden wurde das Nitril mit Chloroform ausgeschüttelt und mit Salzsäure verseift. Die Drehung der so erhaltenen Mandelsäure betrug + 2,35°; war auf 70° erhitzt gewesen, so war es noch + 0,5°. Amygdalin wurde aber von denselben Präparaten in 24stündiger Einwirkung durchaus nicht gespalten, auch nicht nach Gleichung 1., da kein Zucker frei wurde.

Ich habe infolgedessen die Präparate von δ-Emulsin, die ich nach den seither beschriebenen Methoden erhielt, auf die Gegenwart von hydrolytischem und nitrilspaltendem Enzym untersucht und folgendes festgestellt:

1. Die Filtrate, die nach Fällung mit Kupfersulfat und Halbsättigung mit Ammonsulfat gewonnen werden, enthalten beide Enzymarten.

2. Das nach Ganzsättigung mit Magnesiumsulfat zu erhaltende Filtrat enthält nur hydrolysierendes Enzym. Man kann damit auch nach Verdünnung mit Wasser eine asymmetrische Spaltung des r-Nitrils nicht erzielen. Dieser Vorgang wird allerdings, wie Kontrollversuche mit käuflichem Emulsin zeigten, durch die Gegenwart von Magnesiumsulfat gestört, aber bei den in Betracht kommenden Konzentrationen nicht völlig verhindert.

---

[1]) Archiv d. Pharmazie 248, 105, 1910.

Andere Mittel zur Trennung von hydrolytischem und nitrilspaltendem Enzym konnten nicht gefunden werden, insbesondere ließ sich auf das Verhalten zu Säuren und Alkalien kein Scheidungsverfahren begründen. Auch gegenüber adsorbierenden Mitteln war kein Unterschied festzustellen. Alle hier in Betracht kommenden Enzyme werden durch dialysiertes Eisen und Aluminiumhydroxyd adsorbiert, durch Kaolin nicht.

Trotzdem kann nach den oben angeführten Versuchen kein Zweifel darüber sein, daß das nitrilspaltende Enzym nichts mit der hydrolytischen Wirkung des Emulsins zu tun hat. Dagegen war nunmehr die Frage zu prüfen, ob nicht am Ende doch dieses nitrilspaltende Enzym mit dem die asymmetrische Synthese bewirkenden identisch ist, so daß es sich bei beiden Reaktionen nur um einen durch dasselbe Enzym zustande kommenden umkehrbaren Vorgang handeln würde. Nach meinen Versuchen muß ich diese Frage verneinen, da ich durch systematisch verlängerte Einwirkung von Säure und nachherige Neutralisation mit Lauge regelmäßig Präparate erhielt, die nur noch die eine Wirkung aufwiesen. Welches der beiden Enzyme zuerst völlig zerstört wird, läßt sich nicht allgemein angeben. Bei Versuchen mit verschiedenen Präparaten blieb bald das eine, bald das andere erhalten. Zur näheren Erläuterung über die Art der Versuche seien folgende Mitteilungen gemacht:

1. Zu 20 ccm einer $5\,^0/_0$ igen Emulsinlösung wurden 4 ccm $^n/_1$-Schwefelsäure hinzugefügt und nach 8 Minuten mit derselben Menge $^n/_1$-Kalilauge neutralisiert. Die eine Hälfte der Flüssigkeit wurde dann in der oben beschriebenen Weise mit 5 g r-Benzaldehydcyanhydrin in Reaktion gebracht, die andere Hälfte mit 0,27 g Blausäure, 10,6 g Benzaldehyd und 90 g Wasser $2^1/_2$ Stunden lang zusammengeschüttelt. Die Aufarbeitung der beiden Flüssigkeiten durch Ausschütteln mit Chloroform und Verseifen mit Salzsäure erfolgte in der üblichen Weise. Die Drehung der beim synthetischen Versuch erhaltenen Mandelsäure betrug $-0,1^0$, der vom Spaltungsversuch herrührenden $+0,3^0$.

2. Wie 1., Neutralisation nach 10 Minuten, Drehung der Mandelsäure: Synthese 0; Spaltung $+1^0$.[1])

[1]) Da die Größe der Spaltung u. a. davon abhängt, wie häufig man schüttelt und mit welcher Geschwindigkeit die Luft hindurchgeleitet

3. Wie 1., Neutralisation nach 12 Minuten, Drehung der Mandelsäure: Synthese 0, Spaltung + 0,2°.

Diese Versuche lassen keine andere Deutung zu als die, daß auch nitrilspaltendes und synthetisierendes Agens verschieden sind. Zu erörtern wäre dann noch die Möglichkeit, daß beide Wirkungen durch verschiedene Gruppen eines und desselben Moleküles verursacht werden. Es könnte dann durch die Einwirkung der Säure die eine Gruppe vor der andern inaktiviert werden. Auch diese Möglichkeit kann nicht zutreffen. Sie wird u. a. durch den oben erwähnten Versuch mit Magnesiumsulfat ausgeschlossen.

Ob neben dem synthetisierenden Enzym, das den Vorgang 3 der Amygdalinspaltung umkehrt, im Emulsin noch andere synthetisierende Enzyme vorhanden sind, die in analoger Weise die Vorgänge 1 und 2 beeinflussen, läßt sich zurzeit nicht entscheiden; auch die Frage bedarf noch der Untersuchung, in welchem Verhältnis das die Nitrilsynthese beeinflussende Enzym zu dem Anteil des Emulsins steht, der Glucose zu Maltose synthetisiert. Dagegen können jetzt die bei der Spaltung des Amygdalins obwaltenden Verhältnisse als aufgeklärt gelten. Vorgang 1. der Spaltungsgleichung verläuft unter dem Einfluß der Amygdalase[1]), 2. durch eine β-Glucosidase[1]) und 3. durch das in dieser Arbeit von mir festgestellte Enzym, das wohl am besten als δ-Oxynitrilase bezeichnet wird.

Im Anschluß daran sei es mir gestattet, noch auf die Frage der Benennung einzugehen. In der Voraussetzung, daß spaltende und synthetisierende Enzyme nicht identisch sind, möchte ich vorschlagen, den spaltenden Enzymen ganz allgemein das Vorzeichen δ- zu geben, den synthetisierenden σ-. Will man noch zum Ausdruck bringen, daß spaltende und synthetisierende Wirkung sich zunächst auf die rechtsdrehende Form des Benzaldehydcyanhydrins beziehen, so kann man die Bezeichnungen δ-d-, σ-d-Oxynitrilase verwenden, muß dann aber die Vorzeichen d- und l- analog den Verhältnissen bei den Zuckerarten bestehen lassen, auch wenn die Synthese mit

---

wird, so kann es nicht auffallen, daß in diesem Versuch eine größere Ausbeute als beim vorhergehenden erhalten wurde.

[1]) Nach Caldwell, Courtauld, H. E. und E. F. Armstrong und Horton, vgl. H. Euler, Allgemeine Chemie der Enzyme, S. 17.

dem käuflichen Emulsin wie beim Citral zu einem linksdrehenden Nitril führt. Das bisherige σ-Emulsin würde somit die Bezeichnung σ-δ-Oxynitrilase erhalten.

Dagegen käme einem Enzym, das Benzaldehyd und Blausäure zu l-Benzaldehydcyanhydrin synthetisiert (es ist nicht ausgeschlossen, daß ein solches in der Natur vorkommt), der Name σ-l-Oxynitrilase zu.

Bei denjenigen Enzymen, die zu Spaltungen und Synthesen in der Gruppe der Kohlenhydrate führen, wären die heute gebräuchlichen Vorzeichen α- und β- zu belassen. Das Enzym, das Mandelnitrilglucosid nach Gleichung 2 spaltet, wäre somit eine δ-β-Glucosidase.

Die Veraschung von Mikrotomschnitten.

Von

Raphael Ed. Liesegang.

(Aus dem Neurologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 5. September 1910.)

Um die in den Organismen großenteils maskierten Elemente nachzuweisen, verascht man die Organe. Mit dem allgemeinen Nachweis einer bestimmten Menge Phosphat, Eisen usw. kann der Histologe meist aber nicht zufrieden sein. Es kommt ihm darauf an, zu wissen, in welchem Gewebsteil sich der Körper befand. Diese Lokalisierung trotz einer Veraschung zu ermöglichen, war das Ziel der folgenden Untersuchungen.

Paraffin- oder Gefrierschnitte von Organen in einer Dicke bis etwa 20 μ, die man mit einer äußerst dünnen Schicht von Glycerin-Albumin auf Glimmerplättchen klebte, können beim Glühen über dem Bunsenbrenner ihre Struktur größtenteils behalten. Der (weiß werdenden) Veraschung geht eine Verkohlung vorher. Unterbricht man zu dieser Zeit die Hitzewirkung, so zeigen sich die Präparate intensiv gefärbt: die kohlenstoffhaltigen Verbindungen sind „verkohlt", und die braune bis schwarze Kohle liegt, vorausgesetzt, daß die vermeidbaren Blähungen nicht auftraten, an jenen Stellen, wo sich die betreffenden Substanzen vorher befanden. Schrumpfungen einiger Bestandteile kommen zwar vor, aber sie brauchen bei richtiger Versuchsanordnung nicht jene zu übertreffen, die bei den Entwässerungsmethoden auftreten. Man erkennt diese Deformationen übrigens leicht als solche. — Das Lokalisiertbleiben der Stoffe geht jedenfalls so weit, daß man z. B. in dem carbonierten Schnitt durch den Kopf eines viermonatigen Embryos die Blutkörperchen in den Gehirncapillaren scharf sieht. Daß in besser zusammenhängenden Gewebsteilen die Struktur ebenfalls

bis in die feinsten Details erhalten bleiben kann, braucht hiernach kaum erwähnt zu werden. Bei dem kleinen Auge eines Stichlings waren die Zellen der Linse sichtbar geworden, Stäbchen, Zapfen und Ganglienzellen der Retina und der Sehnerv waren vollkommen erhalten und gefärbt. Diese Färbung ist in gewissem Sinne sogar eine spezifische, denn die verschiedenen Substanzen verkohlen und veraschen zu verschiedenen Zeiten. Besonders einige phosphorhaltige Verbindungen lassen den Kohlenstoff erst sehr spät verschwinden. Veraschungsversuche mit aufgestreutem Nucleinpulver hatten schon darauf hingewiesen; an Gefrierschnitten einer menschlichen Schilddrüse trat die Erscheinung besonders auffallend auf: als für die Betrachtung mit bloßem Auge schon alles weiß verascht erschien, zeigte die mikroskopische Untersuchung alle Kerne der Epithelzellen der Follikel als tiefschwarze Punkte. Phosphatreichere Gewebe, wie z. B. Rückenmarkschnitte, lassen sich so schwer weiß glühen, daß die Glimmerplättchen durch Spaltungen unter der Hitze leiden und man hierfür besser die teuren Quarzplättchen benutzen wird. Zwar läßt sich die vollkommene Verbrennung durch Imprägnierungen, z. B. mit Salpeter, befördern, aber dieses Mittel führt nicht allein leicht zu Deformationen durch kleine Verpuffungen, sondern es ist auch aus chemischen Gründen nicht überall angebracht, da gewebsfremde Carbonate zur Asche kommen.

Die Herstellung solcher durch Carbonisierung gefärbter Präparate war natürlich nicht das Ziel. Ihre Betrachtung sollte nur die Gewißheit geben, daß auch die zunächst unsichtbare Asche nach vollkommenem Weißglühen wirklich an der richtigen Stelle liegen würde.

Zuvor noch eine Bemerkung über die Schnitte selbst: Gefrier- und Paraffinschnitte können nach dem Aufkleben ohne weitere Behandlung geglüht werden. Das zum Kleben benutzte Albumin hinterläßt Spuren Asche, die in Kauf genommen werden müssen. Paraffinschnitte können auch ohne Zwischenlage im Brutofen genügenden Kontakt bekommen. Ein Weglösen des Paraffins ist nicht nötig; eine kurze Vorerhitzung entfernt es. — Celloidinschnitte lassen sich nicht direkt benutzen, da die bei der Erhitzung erfolgende Verpuffung zu viel deformiert. Man spüle deshalb das mit Glycerin-Albumin auf-

geklebte Präparat, nachdem es etwas angetrocknet, aber noch nicht durchgetrocknet ist, etwas mit Alkohol ab und löse dann das Celloidin in Äther-Alkohol. Dann lasse man vor der vollkommenen Verflüchtigung dieses Lösemittels das Glühen folgen. — Je dünner der Schnitt ist, desto mehr Chancen sind für eine vollkommene Erhaltung der Struktur vorhanden. Bei 20 μ verschmoren oft nur einzelne Teile, z. B. die Linse des Auges, während alles andere in Ordnung bleibt. — Ausstrichpräparate von Blut (für welche übrigens P. Ehrlich gewissermaßen einen Vorläufer des Verfahrens: das dreimalige Durchziehen durch den Bunsenbrenner angegeben hat) bedürfen keiner Vorpräparation.

Die Versuche, in letzteren nach dem Weißglühen das Eisen nachzuweisen, gaben vorläufig Mißerfolge. Obgleich die roten Blutkörperchen von Menschen-, Kaninchen- und Froschblut nach dem Carbonisieren ihre Form ausgezeichnet erhalten hatten (vorausgesetzt, daß der Aufstrich dünn genug war) und die richtige Verteilung auch der Asche sich feststellen ließ, wenn man die Präparate erst mit Silbernitrat, dann nach dem Abspülen mit Hydrochinon behandelte, versagte doch die Berlinerblau- und die Schwefeleisen-Reaktion. Es war dies aber nicht weiter erstaunlich, als diese Reaktionen auch ausblieben, als Glimmerplatten mit (10%igem) Eisenchlorid beschrieben und dann geglüht worden waren. Das Eisen hat sich als Oxyd von neuem maskiert. Seine Aufschließung ist natürlich chemisch möglich, aber bei den bisher angewandten Mitteln konnte keine Lokalisation herbeigeführt werden. (Eine Vermutung, daß die braunen Schriftzüge vielleicht sogar ein Silicat darstellten, konnte zwar fallen gelassen werden. Sie hatte Anlaß gegeben, Nebenversuche mit anderen Unterlagen zu machen. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß man die Aschenbilder von der Glimmerplatte abziehen könne, wenn man Kollodion darüber gießt und antrocknen läßt. Die zum Glühen verwendete Unterlage braucht also gar nicht durchsichtig zu sein. Dementsprechende Versuche mit Blut auf einer Silberplatte versagten aber nicht allein wegen der neuen Maskierung des Eisens, sondern auch deshalb, weil hierbei eine Übertragung der Asche auf die Kollodionhaut nicht hinreichend gelingen wollte. Es findet nämlich ein „Einbrennen“ wie bei keramischen Bildern statt.)

Im Anschluß an eine histologische Arbeit über die kindliche Schilddrüse schien es Herrn Robert Isenschmid wünschenswert, die Verteilung des Jods in dieser Drüse kennen zu lernen. Mit Hilfe der Mikroveraschung gelang dies aber bei gemeinsamen Versuchen nicht. Zur Bindung des ev. frei werdenden Jods waren die Schnitte vorher mit Kalium- oder Calciumnitrat getränkt worden, die beim Glühen der organischen Substanz in Carbonate übergingen. Diese ergaben bei der nachfolgenden Behandlung mit Silbernitrat einen starken gelbweißen Niederschlag. Nach seiner Entfernung mit Säure war keine Spur von Silberhaloid zu entdecken. — Da die Schilddrüse des Erwachsenen kaum 4 mg Jod, oft noch erheblich weniger enthält, ist der Mißerfolg mit den 20 μ dicken Gefrierschnitten wohl durch die außerordentlich geringe Menge zu erklären.

Eine allgemeinere Bedeutung würde der Nachweis der aus organischer Bindung befreiten Phosphate haben. An sich gelingt derselbe leicht: Beim Einlegen in eine salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdänat entstand ein sehr reichlicher gelber Niederschlag bei weißgeglühten Schnitten, die ihn vor dem Glühen nicht gegeben hatten. Aber die Lokalisierung machte bisher bei diesem Reagens unüberwindliche Schwierigkeiten. Mit Silbernitrat gelingt dieselbe zwar leicht und der Niederschlag kann auch durch vorherige mechanische (mit Kollodion) oder chemische Fixierung (mit Calciumnitrat) zum ausgezeichneten Haften gebracht werden. Aber die Silberreaktion zeigt bekanntlich nicht nur die Phosphate an, und deshalb lag so viel an der Anwendung des Molybdänreagens.

Hansen hatte schon 1885 bei seinen Versuchen, die Verteilung der anorganischen Phosphate innerhalb der Zellen festzustellen, gefunden, daß der Phosphormolybdän-Niederschlag gewöhnlich in der Nähe der Präparate und nicht in diesen selbst entsteht. In neuerer Zeit verfocht besonders E. Zacharias in seiner kritischen Zusammenstellung (Progressus Rei Botan. 3, 1909) im Gegensatz zu Macallum u. a. aus diesem Grunde die Wertlosigkeit der Molybdänmethode für histologische Zwecke. Bei den Versuchen, diesen Übelstand auf irgendeine Weise, z. B. durch vorhergehende Fixierungen der löslichen Phosphate, zu beseitigen, ergab sich folgendes:

Glimmerplatten waren mit 10%iger Lösung von Trinatriumphosphat beschrieben worden. Beim Einbringen der trocknen Schrift in das Molybdänreagens bildete sich der ganze Niederschlag in der Flüssigkeit; auf der Unterlage blieb keine Spur haften. Auch dann nicht, wenn die Platte vorher mit Kollodion übergossen worden war. Das gleiche war der Fall, wenn eine Gelatineschicht mit dem Phosphat beschrieben worden war. Mit Silbernitrat erschien dagegen die Schrift sehr deutlich innerhalb der Schicht als gelber Niederschlag. Wurde nun diese mit dem Molybdänreagens behandelt, so verschwand die Schrift, und der Niederschlag bildete sich doch in der Flüssigkeit. Auch die — an sich ausgezeichnet gelingenden — Fixierungsversuche mit löslichen Calciumsalzen hatten keinen Erfolg. Die Ursache hierfür wurde klar, als ein Reagensglas zur Hälfte mit einer Emulsion von Tricalciumphosphat in Gelatine gefüllt und nach deren Erstarren das Molybdänreagens darüber gegossen wurde. Es entstand an der Oberfläche der Gallerte eine für das Molybdän undurchlässige Haut, und der übrige Teil des Niederschlags schwamm in der Flüssigkeit. Das ursprünglich nicht diffusible Phosphat wurde durch die sehr rasch eindringende Salpetersäure diffusibel gemacht und drang durch die Haut nach außen. — Nach solchen Resultaten war es allerdings verständlich, daß auch die durch Veraschung erzeugten latenten Bilder sich mit Molybdän nicht richtig entwickeln ließen. Neben dieser physikalischen spielt eine zuerst viel mehr gefürchtete chemische Schwierigkeit keine Rolle: daß nämlich die Asche durch Überführung in Pyrophosphat für Molybdän inaktiviert werde.

Drei vollkommen verschiedene Erscheinungen, die mit dem Verfahren an sich gar nichts zu tun haben, vereitelten also bisher bei den drei studierten Körpern den lokalisierten Nachweis. Dort, wo er, z. B. mit Calciumnitrat, Silbernitrat und nachfolgender Reduktion, gelang, war er wertlos, weil die Reaktion nicht genügend spezifisch war. Vielleicht führen andere Reagenzien zu einer besseren Entwicklung dieser latenten Bilder, bei denen die Asche zweifellos an der richtigen Stelle liegt.

Über die Autolyse des normalen Blutes.

Von

J. C. Schippers.

(Aus dem Pathologischen Laboratorium der Universität zu Amsterdam.)

(*Eingegangen am 5. September 1910.*)

Die Autolyse des normalen Blutes wurde eigentlich schon von Denis und de Marbaix[1]) unter dem Namen Fibrinolyse beschrieben. Bei Durchsicht der Literatur über Autolyse fand ich, daß Pfeiffer[2]) und etwas später Erben[3]), Preti[4]) und Neuberg[5]) beiläufig mitteilen, daß auch im normalen Blute Autolyse stattfindet. Oppenheimer schreibt jedoch in der letzten Auflage seines Buches[6]), daß nach Oker-Blom im Blute keine Autolyse stattfindet. Dies muß um so mehr auffallen, als doch mehrere Forscher im Blute Fermente gefunden haben und bis jetzt in allen fermenthaltigen tierischen Geweben Autolyse nachgewiesen ist.

Über die Technik meiner Untersuchungen bemerke ich folgendes. Das Blut wurde im Schlachthaus aus der Halsvene in einem gut gereinigten Gefäß aufgefangen, sogleich sorgfältig defibriniert und ins Laboratorium geschickt, wo ich es meistens 3 bis 4 Stunden später, jedenfalls innerhalb 24 Stunden verarbeitete. Alle benutzten Gegenstände wurden trocken sterilisiert, die Flüssigkeiten gekocht. Die Flaschen, in denen die Autolyse

---

1) La Cellule 5, 197, 1889.
2) Wiener klin. Wochenschr. 1906, 1249.
3) Münch. med. Wochenschr. 1906, 2567.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 485, 1907.
5) Diese Zeitschr. 26, 344, 1910.
6) Die Fermente u. ihre Wirkungen; II. Teil, 244, 1909.

vor sich ging, wurden doppelt mit Papier geschlossen und sterilisiert; bei der Füllung wurde dann die obere Papierschicht mit einer ausgeglühten Pinzette entfernt und die Pipette durch die untere Schicht gestoßen. Auf diese Weise gelang es, die Flaschen steril zu bewahren. Jede Flasche wurde nach der Eröffnung sogleich bakteriell kontrolliert durch Agar-, Gelatine- und Bouillonkulturen. Auch wurden Ausstrichpräparate von dem Inhalte der Flaschen gemacht und mittels Methylenblau gefärbt. Es gelang nie, in diesen Präparaten Bakterien nachzuweisen, auch nicht als die Kulturversuche ein positives Resultat ergeben hatten. In diesen Fällen fand ich immer einen Bac. subtilis; wahrscheinlich enthielten die Flaschen nur einige Sporen des Bacillus.

Es hat sich weiter als empfehlenswert gezeigt, auch bei der antiseptischen Autolyse so steril als möglich vorzugehen. Als Antisepticum wurde Toluol verwendet, weil Chloroform nicht indifferent für Blutfarbstoff ist (Krüger[1]). Weil Blutserum hemmend auf die Autolyse wirkt, wurde das Blut vor den Versuchen immer mit destilliertem Wasser verdünnt.

Der Brutschrank war auf 40,5° C eingestellt; die Flaschen wurden zweimal täglich herausgenommen und kräftig geschüttelt.

Die übliche Methode zum Enteiweißen der Flüssigkeit durch Kochen und Essigsäurezusatz gab keine guten Resultate; im Filtrat war immer, auch wenn frisches Blut angewendet wurde, Blutfarbstoff nachzuweisen. Nach mehreren Mißerfolgen habe ich sodann auf Vorschlag Steensmas im Aceton ein geeignetes Mittel gefunden, um den Blutfarbstoff ganz zu entfernen, wobei jedoch die nicht koagulierbaren Stickstoffverbindungen in Lösung blieben.

Nach dem Enteiweißen wurde das Filtrat mittels einer von Steensma[2]) beschriebenen Methode auf Blutfarbstoff geprüft. Einigen Kubikzentimetern der Flüssigkeit wurden einige Tropfen Pyridin- und ein oder zwei Tropfen Schwefelammon zugesetzt und dann spektroskopisch nach Hämochromogen gesucht. Diese Reaktion hat sich hier immer als sehr empfindlich erwiesen.[3])

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl gemacht. Es erwies sich hierbei sehr vorteilhaft, wenn man nur wenig Salz ($CuSO_4$ und K_2SO_4) zusetzt und anfangs gelinde, später kräftiger erwärmt; die Flüssigkeit schäumt dann nicht.

Kontrollversuche mit Rinderleber zeigten, daß die beschriebene Methode, auch am frischen Organ, kleinere Werte für den nicht koagulier-

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 67, 1903.

[2]) Nederl. Tydschr. v. Geneesk. 1908, I, 160.

[3]) Das vollständige Entfernen des Blutfarbstoffes ist abhängig von der absoluten Menge des Acetons, nicht von der Dauer seiner Einwirkung.

baren Stickstoff gibt als die übliche Methode. Dies ist aber kein Nachteil, weil man doch bei diesen Untersuchungen nur die relativen Werte vergleicht.

Autolyse von defibriniertem Blut.

Versuch 1. Je 100 ccm defibriniertes Pferdeblut wurden mit 100 ccm Wasser und 10 ccm Toluol versetzt. Die Kontrollen wurden bis 90° C erhitzt. Zu jeder Untersuchung wurden zwei Flaschen aus dem Brutschrank genommen und der Inhalt mit 175 ccm Wasser in eine Porzellanschale gespült. Unter stetigem Rühren wurde die Flüssigkeit zum Kochen erhitzt und dann 10 ccm Essigsäure (6%) hinzugefügt. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit nebst Koagula in einen Erlenmeyerschen Kolben gespült, 200 ccm Aceton zugesetzt und nach 2tägigem Stehen durch Leinwand koliert, tüchtig ausgepreßt und 2mal mit 120 ccm Wasser + 50 ccm Aceton nachgewaschen und wieder kräftig ausgepreßt. Jetzt wurde die Kolatur mit dem Waschwasser vereinigt und durch Papier filtriert, das Aceton abdestilliert und die Flüssigkeit auf Eiweiß und Blutfarbstoff geprüft. Nachdem die Flüssigkeit auf dem Wasserbad eingeengt war, wurde sie auf 100 ccm gebracht und 2 Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl von je 5 ccm vorgenommen.

Tabelle I.

Nicht erhitztes Blut					Auf 90° C erhitztes Blut				
Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen	Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
ab	0	0,043	neg.	—					
15	13	0,057	„	neg.	27	13	0,044	pos.	neg.
16	13	0,058	„	„	28	13	0,184	„	„
17	21	0,092	„	„	29	21	0,072	„	„
18	21	0,094	„	„	30	21	0,104	„	„
19	28	0,079	„	pos.	31	28	0,093	neg.	pos.
20	28	0,081	„	neg.	32	28	0,209	pos.	neg.
21	35	0,096	„	„	33	35	0,070	„	„
22	35	0,105	„	„	34	35	0,363	„	„

Versuch 2. Technik wie bei Versuch 1. Nur wurden 15 ccm Toluol zugesetzt; die Kontrollen wurden während einer

Stunde auf 60° erhitzt. Die Flüssigkeiten wurden schließlich auf ein Volum von 50 ccm gebracht und Kjeldahlbestimmungen von je 10 ccm gemacht.

Tabelle II.

Nicht erhitztes Blut					Auf 60° C erhitztes Blut				
Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen	Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
B. B.	0	0,036	neg.						
35	8	0,059	„	neg.	41	8	0,057	pos.	neg.
36	13	0,067	„	„	42	13	0,063	„	pos.
37	152	0,271	pos.	„	—	—	—	—	—
38	162	0,286	„	pos.	44	162	0,239	pos.	neg.

Versuch 3. Portionen von je 100 ccm defibriniertem Kalbsblute wurden mit 225 ccm Wasser verdünnt und mit 15 ccm Toluol versetzt. Die Kontrollen wurden bis 100° C erhitzt. Bei der Untersuchung wurde der Inhalt der Flaschen mit 100 ccm Wasser in eine Porzellanschale gespült. Nach Koagulation und Abkühlung wurden 250 ccm Aceton zugesetzt. Nach 24 Stunden geschah die weitere Bearbeitung wie beim Versuch 1.

Tabelle III.

Nicht erhitztes Blut					Bis 100° C erhitztes Blut				
Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen	Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
—					C. C.		0,060	neg.	—
57	17	0,066	neg.	pos.	54	17	0,056	„	neg.
58	231	0,207	„	„	55	231	0,097	„	„
59	231	0,175	„	neg.	56	231	0,122	„	pos.

Versuch 4. Einfluß der sauren Reaktion. Der Versuch wurde gleichzeitig mit Versuch 3 angestellt und dasselbe Kalbsblut verwendet. Die Ausführung des Versuches war der vom Versuch 3 vollkommen gleich, nur wurden zu jeder Flasche überdies 5 ccm Essigsäure (6 %) zugesetzt.

Tabelle IV.

Nicht erhitztes Blut					Bis 100° C erhitztes Blut				
Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen	Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
50	17	0,108	neg.	neg.	52	17	0,046	neg.	pos.
50	17	0,106	„	„	52	17	0,048	„	„
51	48	0,142	„	pos.	53	48	0,062	„	„
51	48	0,134	„	„	53	48	0,058	„	„

Die mitgeteilten Tabellen der 4 Versuche zeigen deutlich, daß auch im defibrinierten Blute Autolyse stattfindet; weiter daß die Autolyse nicht durch ein einstündiges Erhitzen auf 60° C aufgehoben wird und daß Essigsäure sie stark fördert.

Man wird hier und da in den Kontrollen abnorm hohe Stickstoffwerte finden; ich habe zuerst gedacht, daß ein Teil des Eiweißes durch das zweimalige Erhitzen gespalten wurde. Dies ist jedoch nicht wahrscheinlich, weil dreimaliges Aufkochen des Blutes ohne zu rühren und auch unter stetigem Rühren keine Zunahme von nicht koagulierbarem Stickstoff gibt. Daß Bakterienwirkung hier im Spiele sein sollte, halte ich ebenfalls für unwahrscheinlich, weil nur einige Male Bac. subtilis (und wahrscheinlich nur Sporen desselben) gefunden wurden. Und auch in sterilen Flaschen trat die Erscheinung auf, während sie in infizierten Flaschen ausblieb. Wir sind m. E. hier genötigt, ein spontanes Auseinanderfallen des Eiweißmoleküls anzunehmen.

Autolyse im Blutserum.

Versuch 5. Defibriniertes Pferdeblut wurde in den Eisschrank gesetzt, bis die Blutkörperchen sich gut abgesetzt hatten, alsdann wurde das Serum sorgfältig abgezogen und zentrifugiert; es zeigte sich dann frei von Blutfarbstoff.

Portionen von je 100 ccm Serum wurden mit 100 ccm Wasser und 5 ccm Chloroform in den Brutschrank gesetzt; die Kontrollen wurden bis 90° C erhitzt. Zu verschiedenen Zeiten wurden die Flaschen geöffnet, Impfversuche gemacht, dann der Inhalt mittels 150 ccm Wasser in eine Porzellanschale gespült, zum Kochen erhitzt, 10 ccm Essigsäure (6°/₀) zugesetzt und filtriert. Da das Filtrat jetzt noch Eiweiß enthielt, wurden

200 ccm Aceton hinzugefügt, worauf ein grobflockiger Niederschlag entstand. Nach 24 Stunden wurde aufs neue filtriert, das Filtrat zeigte sich eiweißfrei, das Filter wurde 2mal mit 75 ccm Wasser + 25 ccm Aceton nachgewaschen. Filtrat und Waschwasser wurden vereinigt, das Aceton abdestilliert, auf dem Wasserbad eingeengt und auf 100 resp. 50 ccm gebracht; von jeder Portion wurden zwei Kjeldahlbestimmungen von je 5 ccm gemacht.

Tabelle V.

Nicht erhitztes Serum					Bis 90° C erhitztes Serum				
Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen	Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
11	44	0,056	pos.	neg.	9	44	0,053	pos.	neg.
12	60	0,040	"	"	10	60	0,050	"	"

Versuch 6. Pferdeblut wurde in ein großes Gefäß aufgefangen und nach der Gerinnung im Eisschrank bewahrt, bis das Serum ausgepreßt war. Das abgezogene Serum wurde zentrifugiert und in Portionen von je 50 ccm mit 150 ccm Wasser verdünnt und nach Zusetzen von 15 ccm Toluol in den Brutschrank gesetzt; die Kontrollen wurden bis 98° C erhitzt. Die Bearbeitung geschah wie in Versuch 5; das Filtrat wurde nach dem Eindampfen auf 50 ccm gebracht und Kjeldahlbestimmungen von je 10 ccm gemacht.

Tabelle VI.
Nicht erhitzt.

Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierenden Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
E. E.	0	0,040	neg.	neg.
64	33	0,037	"	"
64	33	0,038	"	"
69	33	0,032	"	"
69	33	0,033	"	"

Aus den mitgeteilten Zahlen ist ersichtlich, daß im Blutserum keine Autolyse stattfindet, wie z. B. Oker Blom auf

andere Weise auch schon gezeigt hat. Alle Versuche mit Essigsäurezusatz mißlangen, weil das verdünnte Serum gelatinierte, nicht mehr gut koagulieren wollte und das Eiweiß sich auf keine Weise ohne erhebliche Verluste der Flüssigkeit entfernen ließ.

Autolyse von roten Blutkörperchen.

Größere Mengen rote Blutkörperchen kann man am zweckmäßigsten in folgender Weise isolieren. Das Blut wird in einer sauberen Flasche vollständig defibriniert, dann während 20 bis 24 Stunden im Eisschrank bewahrt. Sobald die Blutkörperchen sich abgesetzt haben, wird sehr vorsichtig eine 2mal rechtwinklig gebogene Glasröhre, die sich am einen Ende in ein dünnes Capillarrohr verjüngt, bis auf den Boden der Flasche gesenkt. Das andere Ende wird mit einer sterilen Wulffschen Flasche in Verbindung gebracht. Mittels der Luftpumpe wird jetzt die Wulffsche Flasche luftleer gemacht; man sieht dann bald, wie ein dicker Brei von roten Blutkörperchen in die Flasche, die man zweckmäßig vorher zum Teil mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt hat, hineintropft. Die rote Blutkörperchenaufschwemmung, die am besten $^2/_3$ Kochsalzlösung (0,9$^0/_0$) enthält, wird nun in einer Zentrifuge während 10 Minuten zentrifugiert (Tourenzahl 4000 bis 5000).

Die obenstehende Flüssigkeit wird abpipettiert, dann wird noch 2mal mit Kochsalzlösung zentrifugiert, die obenstehende Flüssigkeit das letzte Mal auf Eiweiß geprüft und darauf gut mit den roten Blutkörperchen gemischt. Enthält die obenstehende Flüssigkeit noch Eiweiß, so muß ein drittes Mal mit Kochsalzlösung zentrifugiert werden.

Von einer solchen Blutkörperchenaufschwemmung habe ich wiederholt aus verschiedenen Teilen Ausstrichpräparate gemacht und mit Löfflers Methylenblau oder Giemsalösung gefärbt; ich fand niemals weiße Blutkörperchen, während die roten sehr schön ihre Gestalt erhalten hatten.

Mit diesem Verfahren hat man, wenn man eine Zentrifuge von $\pm$ 300 ccm Kapazität benutzt, nach ungefähr 4 Stunden eine genügende Menge rote Blutkörperchenaufschwemmung, um die gewünschten Bestimmungen vorzunehmen.

Versuch 7. Zu Portionen von 25 ccm einer roten Blutkörperchenaufschwemmung wurden je 150 ccm Wasser und 20 ccm Toluol zugesetzt. Die Kontrollen wurden im Sterilisator während 1/2 Stunde auf 90° C erhitzt. Bei der Bearbeitung wurde der Inhalt einer Flasche mit 60 ccm Wasser in eine Porzellanschale gespült, bei Kochhitze 3 ccm Essigsäure (6%) zugesetzt, nach Abkühlung mit 150 ccm Aceton gemischt, nach 2mal 24 Stunden filtriert, das Filter 2mal nachgewaschen mit 60 ccm Wasser + 25 ccm Aceton, nach Abdestillieren des letzteren eingeengt, auf 50 ccm gebracht und zwei Kjeldahlbestimmungen von je 10 ccm vorgenommen.

Tabelle VII.

Nicht erhitzte Blutkörperchen					Bis 90° C erhitzte Blutkörperchen				
Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffs g	Biuretreaktion	Kulturen	Protokoll Nr.	Dauer der Autolyse Tage	Gesamtmenge des nicht koagulierbaren Stickstoffes g	Biuretreaktion	Kulturen
—					F. F.	—	0,015	neg.	neg.
—						—	0,016	"	"
95	7	0,024	neg.	neg.	90	7	0,022	"	"
95	7	0,023	"	"	90	7	0,021	"	"
96	14	0,029	"	"	91	14	0,021	"	"
96	14	0,027	"	"	91	14	0,022	"	"
97	22	0,033	"	"	92	22	0,022	"	"
97	22	0,034	"	"	92	22	0,022	"	"
98	29	0,037	"	"	93	29	0,023	"	"
98	29	0,037	"	"	93	29	0,024	"	"
99	36	0,046	"	"	94	36	0,024	"	"
99	36	0,046	"	"	94	36	0,026	"	"

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß auch die roten Blutkörperchen Autolyse zeigen.

In beinahe allen Tabellen der 7 Versuche sieht man, daß auch in den Kontrollen eine Zunahme des nicht koagulierbaren Stickstoffs stattfindet; weiter daß bei der Autolyse die Auflösung des Stickstoffes eigentlich unbegrenzt ist. Beides ist im Widerspruch mit den gewöhnlichen Erscheinungen bei der Autolyse. Abderhalden[1]) sagt: „Die Autolyse ist einem Uhrwerk vergleichbar, dessen Feder entspannt wird, und das nun plötzlich zum raschen Ablauf kommt.“ Ich meine, daß

[1]) Lehrb. d. physiol. Chem., 2. Aufl., S. 360.

wir hier zur Erklärung die in letzter Zeit mehr gewürdigte Tatsache anführen können, daß das Eiweißmolekül metastabil ist. Ich glaube, daß wir es auch bei unseren nicht erhitzten Versuchen nur in der ersten Zeit mit Autolyse zu tun haben und daß die spätere Zunahme, sowie der vermehrte nicht koagulierbare Stickstoff in den Kontrollen bedingt ist durch ein spontanes Auseinanderfallen des Eiweißmoleküles.

Es wurde jedesmal die Biuretreaktion ausgeführt. In einer kleinen Anzahl der Fälle, wo sie positiv war, konnte ich mit den üblichen Reaktionen Albumosen nachweisen; einen Niederschlag mit ammoniakalischer Silberlösung bekam ich nie. Es gelang mir, Leucin- und Tyrosinkrystalle aus defibriniertem Pferdeblut, dem Essigsäure zugesetzt war, nach 26tägiger Autolyse zu isolieren.

Zum Schlusse möchte ich die Ergebnisse meiner Untersuchung kurz zusammenfassen:

1. In defibriniertem Blute findet Autolyse statt.

2. Zusatz von Essigsäure fördert diese Autolyse.

3. Rote Blutkörperchen zeigen Autolyse.

4. Das Blutserum zeigt keine Autolyse.

5. Das bei der Autolyse wirksame Prinzip erträgt ein 1stündiges Erhitzen auf 60° C, erliegt einem kurzen Erhitzen auf 90° C.

6. Bei langdauernden Autolyseversuchen ist der in Lösung gegangene nicht koagulierbare Stickstoff zum Teil abhängig von der Autolyse, zum Teil wahrscheinlich von einem spontanen Auseinanderfallen des Eiweißmoleküles.

7. Bei der Autolyse von defibriniertem Blute entstehen Leucin, Tyrosin und bisweilen auch Albumosen.

Über die Verdauungsarbeit nach Kohlenhydratnahrung in ihrer Abhängigkeit von der physikalischen Beschaffenheit der Nahrung.

Von

Otto Müller.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 2. September 1910.)

Die Wirkung der Nahrungsaufnahme auf den Lungengaswechsel hat schon Lavoisier bei seinen grundlegenden Versuchen über die Respiration erkannt. Spätere Forscher bemühten sich dann, Genaueres hierüber festzustellen. Es mußten die Unterschiede im Einfluß der verschiedenen Nahrungsmittel auf den Gaswechsel untersucht werden; es war die absolute Größe dieser Änderungen, der zeitliche Ablauf derselben, die Unterschiede im Verhältnis der Sauerstoffaufnahme zur Kohlensäureausscheidung festzustellen. Sehr interessierte auch die Frage, welche Ursachen denn eigentlich jenen Änderungen zugrunde lägen.

Speck[1]) zog den Schluß, daß der erhöhte Stoffumsatz nach der Speiseaufnahme durch eine Verdauungsarbeit bedingt sei und nicht herrühre von einer vermehrten Oxydation infolge der Mehrzirkulation von verbrennungsfähigem Material. Zu derselben Ansicht bekannten sich Zuntz und Mering[2]), die unabhängig von dem genannten Forscher die vorliegende Frage in einer Reihe von Versuchen prüften. Zum Beweise für die Bedeutung der Arbeitsleistung des Verdauungsapparates führen sie den Nachweis, daß eine Anzahl von Stoffen bei direkter Einführung in die Blutbahn keine Steigerung des Energieumsatzes bewirken, wohl aber, wenn sie per os dem Körper

---

[1]) Speck, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 2, 405, 1874.

[2]) Zuntz und Mering, Pflügers Arch. 15, 634 u. 32, 173.

einverleibt werden. Unter Verdauungsarbeit verstanden sie Sekretion, Resorption, Fortbewegung des Magen-Darminhaltes, vermehrte Arbeit des Herzens. — Gegen diese Ansicht wandte sich Voit[1]) und später Rubner[2]).

Wenn die Stoffwechselsteigerung nach Zufuhr von Kohlenhydraten im wesentlichen auf einer „spezifisch dynamischen Wirkung" im Sinne Rubners beruhen würde, müßte es gleichgültig sein, für die Höhe dieser Steigerung, ob man Kohlenhydrate in einer Form, die wenig Verdauungsarbeit erfordert, gibt, oder in einer solchen, die erheblichere Umwandlungen im Darmtraktus erfahren muß, d. h. solche Kohlenhydrate, die erst durch Drüsensekrete umgearbeitet werden müssen, ehe sie in die Säftemasse eintreten, und die durch ihre mechanische Beschaffenheit größere Anforderungen an die Muskulatur des Darmes stellen. Der Umstand, daß Rubner in seinen Versuchen, die im wesentlichen mit Zucker angestellt waren, geringere Stoffwechselsteigerung fand als Magnus-Levy[3]) bei vorwiegender Verfütterung von Stärke, ließ es wahrscheinlich erscheinen, daß man wohl die stärkere Verdauungsarbeit bei Verabreichung von Stärke messend würde nachweisen können. Diese Frage experimentell zu prüfen, war die Aufgabe, die mir Herr Geheimrat Prof. Dr. Zuntz stellte, und bei deren Bearbeitung er mich ständig unterstützte.

Allgemeine Versuchsanordnung und Versuchsprotokolle.

Zuntz und seine Schüler haben immer daran festgehalten, daß die gleichzeitige Kenntnis des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäureausscheidung ziemlich weitgehende Schlüsse auf die Zersetzungen im Tierkörper erlaube. Aus beiden Werten zusammen kann man, bei annähernder Kenntnis des Eiweißverbrauches (Stickstoff im Harn), die Beteiligung der Kohlenhydrate und der Fette an den jeweiligen Verbrennungen mit genügender Sicherheit erschließen und so die Wärmeproduktion, den Kraftwechsel in der Zeiteinheit berechnen.

---

[1]) Voit, Hermanns Handb. d. Physiolog. 6, 209, Leipzig 1881.

[2]) Rubner, Zeitschr. f. Biol. 19, 313; ferner Rubner, Energieverbrauch bei der Ernährung. Leipzig-Wien 1902, S. 44 u. ff.

[3]) Magnus-Levy, Über die Größe des respiratorischen Gaswechsels unter dem Einfluß der Nahrungsaufnahme. Pflügers Arch. 55, Bonn 1894.

Die Versuche wurden an einem für Respirationszwecke gut dressierten Hunde im Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule ausgeführt. Anfänglich unternahm ich auch Versuche an mir selbst und einem mir bekannten Herrn. Da aber die aufgenommenen großen Mengen von Zucker resp. Stärke bald nach der Aufnahme Brechreiz hervorriefen, traten Störungen in der Atemmechanik auf. Daher mußte ich diese Versuche als wertlos abbrechen und mich auf solche am Hunde beschränken.

Das seit 24 oder 48 Stunden nüchterne Tier wurde mit großen Mengen des einen oder anderen Kohlenhydrates gefüttert und kurze Zeit nach der Fütterung beginnend, eine Reihe von Stunden den einzelnen Respirationsversuchen unterworfen.

Durch eine ins Freie führende, sehr weite Zuleitung inspiriert das unter völliger Muskelentspannung auf einer bequemen Matratze gelagerte und zum Schutze gegen die im Zimmer vereinzelt vorkommenden Fliegen mit einem Tuch bedeckte Tier frische atmosphärische Luft. Die exspirierte Luft streicht durch eine Elstersche Gasuhr, die das Volumen derselben mißt. Die Richtung des die Lungen passierenden Luftstromes wird durch zwei Darmventile und eine luftdicht schließende Trachealtamponkanüle eindeutig bestimmt, so daß jeder Verlust an Exspirationsluft ausgeschlossen ist. Ein aliquoter Teil der letzteren wird in einem Rohr über mit Rosol- und Salzsäure leicht angesäuertem Wasser aufgefangen und im Zuntzschen Apparat volumetrisch analysiert. Die Absorption der Kohlensäure erfolgt dort durch 40 °/₀ige Kalilauge, die des Sauerstoffs durch Phosphorstangen.

Es wird so die Atemmechanik des Hundes, sein Sauerstoffverbrauch und seine Kohlensäureausscheidung gemessen. Bei einem Teil der Versuche wurde unmittelbar vorher der Gaswechsel im Nüchternzustande bestimmt, bei anderen für diesen der Durchnittswert aus einer größeren Anzahl von besonderen Versuchen in Rechnung gestellt. Wie in den früheren Versuchen von Magnus-Levy in der schon (S. 428) zitierten Arbeit bewirkten Kohlenhydrate regelmäßig eine viele Stunden anhaltende Steigerung des Gaswechsels. Das Nähere ergibt sich aus den Protokollen der einzelnen Versuche.

Versuch 1.

Am 6. Januar 1910. Der seit 24 Stunden nüchterne Hund erhält morgens 9 Uhr 200 g Stärke mit einem später bestimmten Wassergehalt von 14,5 % mit warmem Wasser angerührt. Zur Geschmacksverbesserung wird, wie auch bei allen folgenden Versuchen, dem Stärkebrei Schmalz zugesetzt und eine Prise Kochsalz. In diesem Versuch 40 g Schmalz. Die Aufnahme dieser Nahrung, die der Hund durch gutes Zureden zu sich nahm, dauerte 1 Stunde. Die Nahrung der vorhergehenden Tage bestand aus 125 g Fleisch mit gekochtem Reis und Knochen, die in einer einmaligen Portion täglich verabreicht wurde. Das Gewicht des Hundes betrug an diesem Tage 15,35 kg. Nachdem der Hund nach Verzehren der Nahrung 1/2 Stunde lang in ruhiger Lage verweilt hatte, wurde er an den Apparat angeschlossen, und zunächst für eine Reihe von Minuten die Regelmäßigkeit der Atemmechanik geprüft. In ähnlicher Weise wurde bei allen anderen Versuchen verfahren. Der Beginn der Probeentnahme der Exspirationsluft erfolgte bei diesem Versuch um 10^h 34′. Es sei hier bemerkt, daß bei allen meinen Respirationsversuchen für peinlichste Ruhe in dem für diese Zwecke eingerichteten und abgesperrten Zimmer gesorgt war, so daß das Tier vollkommen ruhig atmen konnte.

Bei dem ersten Respirationsversuch wurde folgendes Protokoll verzeichnet, das in ähnlicher Weise bei allen weiteren Versuchen aufgenommen wurde.

Versuch 1.

Am 6. Januar 1910. Der Hund wurde 1/2 Stunde nach Aufnahme der Stärke an den Apparat angeschlossen.

Zeit	Stand der Gasuhr	Atemgröße Liter	Bemerkungen
10^h 30′	377,60		Vorversuch
10^h 31′	381,20	3,60	
10^h 32′	384,90	3,70	
10^h 33′	388,65	3,75	
10^h 34′	392,25	3,60	Probeentnahme beginnt
10^h 35′	396,00	3,75	
10^h 36′	399,50	3,50	
10^h 37′	403,10	3,60	
10^h 38′	406,60	3,50	
10^h 39′	410,50	3,90	
10^h 40′	413,90	3,40	
10^h 41′	417,50	3,60	
10^h 42′	—	—	
10^h 43′	424,80	7,30:2	
10^h 44′	428,40	3,60	
10^h 45′	431,90	3,50	
10^h 46′	435,45	3,55	
10^h 47′	439,55	3,90	
10^h 48′	443,10	3,55	
10^h 49′	446,20	3,10	
10^h 50′	449,15	3,95	Schluß der Probenahme

Der zweite Versuch wurde unmittelbar dem ersten angeschlossen und dabei wieder ein Protokoll wie das obige verzeichnet.

$1\,^3/_4$ Stunden von der Aufnahme der Stärke an gerechnet, wurde der Hund wieder an den Apparat angeschlossen. Zwischen diesem und dem vorhergehenden Versuche lag das Tier auf der Matratze. Die Tamponkanüle wurde nach jedem Versuch wieder entfernt, gereinigt und durch eine Dauerkanüle ersetzt. Auf diese Weise wurde jede Reizung und Entzündung der Trachealschleimhaut vermieden, und es ist auch nicht ein einziges Mal während der vielen Respirationsversuche vorgekommen, daß der Versuch wegen eintretenden Hustenreizes hätte unterbrochen werden müssen.

Noch 4 weitere Respirationsversuche wurden an diesem Tage vorgenommen, derart, daß sie in die Zeit von $3\,^1/_2$, $5\,^1/_2$, $6\,^3/_4$ und 7 Stunden nach Aufnahme der Stärke fielen.

Die einzelnen in Röhren aufgefangenen Luftproben wurden noch an demselben Tage resp. am folgenden analysiert.

Aus den bei der Analyse gefundenen Werten für den Gehalt an O_2, an CO_2 und N_2 in der Exspirationsluft wurde, wie in der Arbeit von Newton-Heinemann[1]) genauer dargelegt, das Sauerstoffdefizit berechnet. Das aus der Gasuhrablesung sich ergebende Atemvolum pro Minute wird auf Normaldruck, 0° C und Trockenheit reduziert. Hieraus ergibt sich durch Multiplikation mit dem CO_2-Überschuß der exspirierten Luft über die inspirierte und mit dem Sauerstoffdefizit die Kohlensäureabgabe und Sauerstoffaufnahme in Kubikzentimetern pro Minute. Erstere Zahl durch letztere dividiert ergibt den respiratorischen Quotienten. Außerdem sind in der Tabelle noch die Werte für die Energieentwicklung pro Minute in kleinen Calorien verzeichnet. Die Berechnung derselben erfolgt in der von Zuntz und Schumburg[2]) angegebenen Weise.

---

[1]) Newton-Heinemann, Experimentelle Untersuchungen am Menschen über den Einfluß der Muskelarbeit auf den Stoffverbrauch. Bonn 1901, S. 10 bis 11; dieselbe Arbeit in Pflügers Arch. 83, 451, Bonn 1901.

[2]) Zuntz und Schumburg, Physiologie des Marsches. Berlin 1901, 260 u. 361.

Folgende Tabelle enthält die wesentlichen Daten des Versuches.

Tabelle I.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute		CO_2[1]	O_2	N	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
		absolut Liter	reduziert Liter	%	%	%					
1	1/2 Std.	3,58	3,24	2,93	17,59	79,46	94,80	3,448	111,56	0,85	542,5
2	1 „	3,69	3,31	3,49	17,54	79,41	100,59	3,475	115,74	0,87	565,7
3	1 3/4 „	3,82	3,45	3,00	17,67	79,30	103,47	3,315	114,33	0,91	564,4
4	3 1/2 „	3,70	3,34	3,04	17,53	79,40	101,41	3,487	116,33	0,87	568,6
5	5 1/2 „	4,20	3,77	2,89	17,95	79,13	108,90	2,996	112,89	0.97	564,2
6	6 3/4 „	5,84	5,23	2,05	18,64	79,29	107.13	2,347	122,65	0.87	585,8
7	7 „	5,23	4,68	2,21	18,55	79,17	103,35	2,417	113,03	0,91	558,0

Versuch 2.

Am 9. Januar 1910. Der vorher in derselben Weise wie bei dem vorhergehenden Versuch gefütterte Hund, jetzt seit 24 Stunden nüchtern, erhielt wieder 200 g Stärke mit 40 g Schmalz als Nahrung vorgelegt. Die Aufnahme derselben dauerte wieder 1 Stunde. 1/2 Stunde ließ ich dann das Tier wieder ruhen und schloß es dann an die Gasuhr an. Die Respirationsversuche wurden in der Weise vorgenommen, daß sie sich von der ersten Stunde nach der Stärkeaufnahme bis zur neunten Stunde nach derselben erstreckten. Die folgende Tabelle enthält die uns interessierenden Zahlen.

Tabelle II.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute		CO_2	O_2	N	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
		absolut Liter	reduziert Liter	%	%	%					
1	1/2 Std.	3,00	2,67	3,27	17,13	79,58	87,34	3,935	105,1	0,83	508,5
2	1 3/4 „	2,86	2,55	3,52	16.78	79,67	89,75	4,308	109,79	0,82	529,8
3	6 3/4 „	3,22	2,88	3,39	17,09	79,49	97,72	3,95	113,86	0,86	555,1
4	7 1/4 „	3,26	2,91	3,45	17,12	79,41	100,22	3,90	113,29	0,89	565,5
5	8 „	3,40	3,09	3,40	17,17	79,41	103,57	3,85	116,25	0,89	571,1

Versuch 3.

Am 20. Januar 1910. Das in der versuchsfreien Zeit wieder mit 125 g gekochtem Fleisch, Reis und Knochen gefütterte Tier wurde am Morgen dieses Tages, seit ca. 43 Stunden nüchtern, zwei Respirationsversuchen unterworfen, um den Nüchternwert zu ermitteln. Beide

[1]) Nach Abzug von 0,03% für den CO_2-Gehalt der Inspirationsluft.

Nüchternversuche wurden kurz hintereinander ausgeführt. Der Hund erhielt nun 239 g Glucose (mit einem später bestimmten Wassergehalt von 6,16%) in 300 g Wasser gelöst vorgesetzt. Diese Nahrung wurde mit großer Begierde aufgenommen. 1 Stunde darauf begann ich mit den Respirationsversuchen, die in Pausen bis zur 5. Stunde nach der Zuckeraufnahme fortgesetzt wurden. Das Ergebnis dieser Versuche ist in folgender Tabelle wiedergegeben.

Tabelle III.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern 43 Std.	2,10	1,86	3,77	16,09	80,12	70,17	5,177	95,25	0,737	441,9
2		1,97	1,76	3,59	15,97	80,37	63,08	5,304	93,19	0,677	
3	1 „	2,88	2,56	3,65	16,70	79,63	93,75	4,378	112,45	0,833	544,1
4	1¾ „	3,11	2,76	3,61	16,95	79,42	99,79	4,072	112,57	0,89	553,0
5	2½ „	3,18	2,82	3,47	17,01	79,49	97,99	4,030	113,81	0,86	554,9
6	4¼ „	2,98	2,65	3.55	16,84	79,59	93,95	4,227	114,48	0,84	555,3

Versuch 4.

Am 7. Februar 1910. Das seit 24 Stunden nüchterne Tier wurde am Morgen zunächst zwei Versuchen unterworfen, um den Nüchternwert zu ermitteln. Darauf erhielt es als Nahrung 239 g Glucose mit Wasser. Nur die Hälfte davon wurde freiwillig aufgenommen, der Rest wurde vollkommen in Wasser aufgelöst und mittels einer Magensonde in den Magen infundiert. Bis zur 7. Stunde nach der Futteraufnahme unternahm ich 6 Respirationsversuche, während welcher Zeit sich der Hund sehr wohl zu fühlen schien. Die Fütterung vor dem Versuchstag war die schon bei den vorhergehenden Versuchen angegebene. Die interessierenden Zahlen ergeben sich aus folgender Tabelle.

Tabelle IV.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern 24 Std.	2,96	2,64	3,18	17,395	79,40	84,14	3,622	95,84	0,88	447,1
2		2,73	2,45	3,18	17,46	79,33	77,48	3,538	86,20	0,89	
3	½ „	3,77	3,33	3,21	17,74	79,04	107,05	3,181	106,08	1,009	536,8
4	1¼ „	3,99	3,52	3,02	18,05	78,90	106,34	2,838	99,93	1,064	512,3
5	4¾ „	4,24	3,74	2,84	18,045	79,09	106,28	2,89	108,15	0,983	543,2
6	5¼ „	4,56	4,01	2,65	18,32	79,00	106,37	2,59	104,01	1,023	527,6
7	6 „	5,06	4,45	2,22	18,615	79,14	98,69	2,33	103,58	0,953	516,4

Versuch 5.

Am 14. Februar 1910. Dem seit ca. 36 Stunden nüchternen Hund wurden wieder 239 g Glucose unter Zusatz von Wasser als Nahrung vorgesetzt. Da er nichts davon fraß, wurde der Zucker wieder vollkommen in Wasser aufgelöst und mit der Magensonde infundiert. Ich konnte es nicht verhindern, daß das Tier kurze Zeit nach der Aufnahme ungefähr einen Eßlöffel voll erbrach. Das Wohlbehagen kehrte jedoch bald wieder zurück. 6 Stunden nach der Zuckeraufnahme begann ich mit den Respirationsversuchen, die sich bis zur 10. Stunde nach derselben erstreckten. Im ganzen wurden 4 Versuche ausgeführt.

Das Gewicht des Hundes betrug an diesem Tage 15,24 kg.

Tabelle V.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	6 Std.	2,26	2,04	2,89	17,13	79,96	58,95	4,036	82,33	0,72	387,1
2	6 3/4 Std.	2,47	2,23	3,06	17,25	79,67	68,17	3,843	85,62	0,80	411,1
3	8 1/2 „	2,44	2,19	3,10	17,135	79,74	68,12	3,972	87,28	0,78	416,9
4	9 3/4 „	2,16	1,95	2,98	17,04	79,95	58,00	4,123	80,25	0,72	377,3

Versuch 6.

Am 16. Februar 1910. Am Tage nach dem letzten Zuckerversuch erhielt der Hund wieder seine gewöhnliche Fleisch-Reiskost. Nachdem er 24 Stunden nüchtern war, erhielt er 200 g Stärke mit 40 g Fett und etwas Kochsalz. Analog der vorhergehenden Versuchsreihe begann ich die Respirationsversuche erst 6 Stunden nach der Aufnahme der Nahrung. Die uns interessierenden Zahlen finden sich in folgender Tabelle wieder.

Tabelle VI.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	6 Std.	2,71	2,41	2,83	17,385	79,76	68,36	3,727	90,03	0,76	427,8
2	7 1/2 Std.	2,68	2,39	2,76	17,575	79,64	65,97	3,505	83,78	0,79	401,2
3	8 1/2 „	2,24	1,99	3,00	17,30	79,67	59,95	3,788	75,69	0,79	362,5
4	9 1/2 „	2,22	1,98	2,81	17,415	79,76	55,71	3,733	73,49	0,76	349,2

Versuch 7.

Am 19. Februar 1910. Der Hund erhielt vor dem Versuchstage wieder sein normales Futter. Nachdem er 43 Stunden gehungert hatte, unternahm ich an ihm einen Nüchternversuch. Darauf erhielt er 239 g Glucose in Wasser gelöst mit der Schlundsonde. Bald nach der Auf-

nahme wurde eine ganz geringe Menge erbrochen. Mit den Respirationsversuchen begann ich ca. 1 Stunde nach Aufnahme des Zuckers. Die uns interessierenden Zahlen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Tabelle VII.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (43 Std.)	2,09	1,85	3,15	16,65	80,17	58,20	4,57	84,44	0,69	394,6
2	$^3/_4$ Std.	2,63	2,33	3,05	17,29	79,63	71,11	3,783	88,20	0,81	424,6
3	$2^1/_2$ „	3,18	2,82	2,82	17,735	79,47	78,20	3,30	93,16	0,84	451,9
4	$3^3/_4$ „	3,09	2,74	2,99	17,78	79,20	81,89	3,184	87,20	0,94	433,7
5	$5^1/_2$ „	3,66	3,24	2,58	18,22	79,18	83,63	2,739	88,79	0,94	441,6

Versuch 8.

Am 15. März 1910. Bis zu den angeführten Versuchsreihen hatte der Hund eine gemischte Kost erhalten. Von jetzt ab bestand das Futter aus einer genau abgewogenen Menge von 250 g Fleisch + 130 g Reis. Nachdem er 4 Tage lang diese Kost erhalten hatte, führte ich an dem seit ca. 24 Stunden nüchternen Hund einen Versuch aus. Darauf erhielt er 100 g Stärke mit demselben Wassergehalt von 14,5% + 10 g Fett. Es folgten nun drei weitere Respirationsversuche; die sich aus ihnen ergebenden Daten sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Tabelle VIII.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (24 Std.)	2,23	2,16	2,95	17,09	79,93	60,88	4,068	84,04	0,72	395,2
2	$1^1/_4$ Std.	2,87	2,63	3,35	17,165	79,46	88,21	3,868	97,11	0,91	479,4
3	$2^3/_4$ „	3,15	2,87	3,02	17,41	79,54	86,82	3,644	104,76	0,83	506,9
4	4 „	3,46	3,23	3,01	17,515	79,45	97,12	3,515	113,42	0,86	552,9

Versuch 9.

Am 21. März 1910. In der zwischen Versuch 8 und 9 liegenden Zeit erhielt der Hund wieder die vor Versuch 8 gegebene Kost. An diesem Tage wurde zunächst an dem seit ca. 24 Stunden nüchternen Hund wieder ein Nüchternversuch ausgeführt. Entsprechend den 100 g Stärke erhielt er nun heute als Nahrung 112 g Glucose mit einem Wassergehalt von 6,16%, in Wasser gelöst mit der Magensonde appliziert. Bald darauf erbrach das Tier fast die gesamte Menge. Bis auf einen

ganz geringen Rest konnte das Erbrochene gesammelt und wieder eingegeben werden. Das Gewicht des Hundes betrug an diesem Tage 17,7 kg. 1 Stunde nach Aufnahme der Nahrung begann ich mit den Respirationsversuchen. Aus der folgenden Tabelle ergeben sich die für unsere Untersuchungen wesentlichen Zahlen.

Tabelle IX.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (24 Std.)	1,90	1,76	3,33	16,70	79,94	58,65	4,46	78,56	0,75	372,3
2	1¼ Std.	2,04	1,86	3,28	16,46	80,23	61,19	4,776	89,10	0,69	416,4
3	3¼ „	2,60	2,37	3,38	16,985	79,51	80,13	4,061	96,27	0,832	465,8
4	5 „	2,68	2,45	3,22	17,26	79,50	79,05	3,788	92,99	0,85	452,2
5	6½ „	2,11	1,93	2,98	17,26	79,71	57,41	3,839	73,96	0,78	353,3

Versuch 10.

Am 2. April 1910. Der wie vor Versuch 9 gefütterte Hund wurde nachdem er seit 48 Stunden nüchtern war, zunächst einem Respirationsversuch unterworfen. Er erhielt darauf wieder als Nahrung 112 g Glucose, wovon etwa 1 Kinderlöffel voll bald nach der Aufnahme erbrochen wurde. Darauf wurden vier weitere Respirationsversuche angestellt.

Das Gewicht an diesem Tage betrug 16,33 kg. Die für unsere Untersuchung wesentlichen Zahlen finden sich in der folgenden Tabelle.

Tabelle X.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (48 Std.)	2,08	1,20	3,09	16,78	80,10	59,33	4,422	84,90	0,699	397,8
2	1¾ Std.	2,39	2,19	3,04	17,20	79,74	66,63	3,907	85,63	0,778	409,0
3	5 „	3,02	2,75	3,07	17,54	79,37	84,54	3,469	95,52	0,885	468,0
4	6½ „	3,29	3,00	2,90	17,985	79,09	87,06	2,95	88,56	0,98	444,8
5	8 „	2,19	2,00	2,96	17,20	79,81	59,29	3,926	78,64	0,757	372,7

Versuch 11.

Am 6. April 1910. Das Futter war vor dem Versuch das übliche. Der seit ca. 24 Stunden nüchterne Hund erhielt 100 g Stärke. 2 Stunden nach Aufnahme derselben wurde ein Respirationsversuch unternommen. Zwischen der 2. und 5. Stunde nach der Aufnahme trat Erbrechen ein, wobei ca. ⅓ bis ¼ der aufgenommenen Stärkenahrung für

den Versuch wertlos wurde. Trotzdem setzte ich die Versuche fort. Die uns interessierenden Zahlen sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle XI.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	2 Std.	2,22	2,01	3,08	17,035	79,86	61,79	4,104	82,34	0,75	390,2
2	5 „	1,96	1,78	3,54	16,225	80,21	62,96	5,006	89,03	0,707	(417,5)[1]
3	7 „	1,98	1,79	3,26	16,595	80,12	58,46	4,612	82,70	0,707	(387,9)
4	8$^1/_2$ Std.	1,96	1,78	3,37	16,575	80,03	59,90	4,609	81,92	0,731	(386,2)

Versuch 12.

Am 11. April 1910. Der wie vorher gefütterte und seit ca. 24 Stunden nüchterne Hund erhielt 85,5 g Trockenstärke + 10 g Fett, das er in wenigen Minuten fraß. Das Gewicht betrug an diesem Tage 17,7 kg. Es wurden vier Respirationsversuche ausgeführt, aus denen sich die in der folgenden Tabelle angeführten Daten ergeben.

Tabelle XII.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	1$^1/_4$ Std.	2,85	2,62	2,62	17,585	79,77	68,53	3,53	92,34	0,74	436,5
2	3$^1/_2$ „	2,37	2,16	2,98	17,275	79,72	64,38	3,826	82,66	0,78	394,8
3	5$^3/_4$ „	2,49	2,27	2,89	17,435	79,65	65,59	4,723	82,73	0,79	396,2
4	7$^3/_4$ „	2,22	2,02	3,04	17,205	79,73	61,50	3,899	78,88	0,80	378,7

Versuch 13.

Am 19. April 1910. Von jetzt ab erhielt der Hund nur animalische Nahrung, die in einer täglichen Portion von 300 g reinem, sehnenfreiem Fleisch und 50 g Fett bestand. Nachdem er ca. 5 Tage lang diese Kost zu sich genommen hatte, wurde an dem seit 48 Stunden nüchternen Hund zunächst wieder ein Versuch unternommen. Nachdem er darauf 100 g Stärke als Nahrung erhalten hatte, wurden an ihm in bestimmten Pausen vier Respirationsversuche ausgeführt. Das Gewicht betrug an diesem Tage 16,12 kg. Die uns interessierenden Zahlen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

[1]) Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Werte, die sich nach dem Erbrechen ergeben haben. Sie sind bei den späteren Berechnungen nicht mit aufgenommen worden.

Tabelle XIII.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (48 Std.)	1,94	1,79	3,16	16,58	80,23	56,80	4,656	83,68	0,68	390,0
2	1 Std.	1,83	1,69	3,47	16,05	80,46	58,77	5,253	88,96	0,66	412,5
3	3 „	1,93	1,80	3,37	16,395	80,21	60,77	4,836	87,21	0,70	408,6
4	5 „	1,92	1,78	3,53	16,40	80,08	62,75	4,789	85,14	0,74	402,4
5	7½ Std.	1,75	1,61	3,77	16,035	80,17	60,76	5,185	83,57	0,73	394,0

Versuch 14.

Am 23. April 1910. Nach dem vorigen Versuchstage erhielt der Hund wieder für einige Tage die angeführte animalische Kost. Nachdem er seit 48 Stunden nüchtern war, wurde zunächst wieder ein Respirationsversuch ausgeführt. Dann erhielt er 112 g Glucose in Wasser gelöst mit der Schlundsonde appliziert. Darauf wurden vier weitere Respirationsversuche unternommen.

Das Gewicht betrug an diesem Tage 16,52 kg.

Die wesentlichen Daten finden sich in der folgenden Tabelle.

Tabelle XIV.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (48 Std.)	1,96	1,81	3,09	16,69	80,21	55,79	4,541	81,99	0,68	382,2
2	1 „	2,33	2,15	3,28	16,89	79,80	70,48	4,228	90,85	0,78	424,1
3	3 „	2,29	2,09	3,29	16,82	79,87	68,99	4,322	90,63	0,76	430,7
4	5 „	2,46	2,25	3,36	16,91	79,71	75,46	4,189	94,08	0,80	451,7
5	7½ „	1,94	1,78	3,18	16,74	80,06	56,53	4,457	79,24	0,71	371,7

Versuch 15.

Am 28. April 1910. Der Hund erhielt die Tage vorher wieder dieselbe animalische Kost. Es wurde zunächst an dem seit 48 Stunden nüchternen Tier ein Versuch ausgeführt. Nachdem er dann als Nahrung 85,5 g Trockenstärke und 10 g Schmalz erhalten hatte, folgten in Pausen vier weitere Respirationsversuche.

Das Gewicht betrug 15,94 kg.

Die uns interessierenden Zahlen sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle XV.

	Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
1	nüchtern (48 Std.)	1,70	1,58	3,11	16,495	80,37	49,16	4,779	75,55	0,65	394,4
2	1 „	2,07	1,90	3,30	16,405	80,27	62,66	4,842	91,94	0,68	428,5
3	3 „	2,05	1,90	3,19	16,68	80,10	60,45	4,522	85,69	0.705	401,5
4	5 „	1,88	1,83	3,06	16,805	80,12	55,78	4,402	80,51	0,69	376,3
5	7½ „	2,05	1,89	3,17	16,90	79,91	59,87	4,253	80,32	0,75	380,7

Für die Hauptfrage, die durch die Versuche gelöst werden sollte, ist die Antwort eine durchaus eindeutige. Es zeigt sich, daß gleiche Mengen Kohlenhydrate in Form von Stärke eine erheblichere Steigerung des Gaswechsels bewirken als in Form von Glucose und daß auch meist die Steigerung nach Stärke länger anhält.

Zur näheren Erläuterung dieser Tatsache seien zunächst die Versuche in solche eingeteilt, in denen sehr große Mengen Kohlenhydrate dem etwa 15 bis 16 kg wiegenden Hunde verabreicht wurden und in solche mit geringeren Mengen.

Die Quantitäten der beiden Kohlenhydrate sollten so bemessen sein, daß gleiche Energiewerte mit beiden dem Körper zugeführt wurden. Infolge des ungleichen Wassergehaltes der beiden Präparate, der erst nachträglich bestimmt wurde, stellte sich aber die Sache so, daß in Form von Traubenzucker erheblich mehr Energie verabreicht wurde als bei Stärke.

Es betrug der Wassergehalt der Stärke 14,5%; der des Traubenzuckers 6,16%. Es wurden daher in 200 g Stärke 171 g Trockensubstanz entsprechend bei 4,18 Cal. Verbrennungswärme 714,78 Cal. verabreicht.

In 239 g Glucose mit 93,84% Trockensubstanz wurden 224,28 g Trockenglucose gegeben, die bei 3742,6 cal. pro Gramm einer Wärmemenge von 839,4 Cal. entsprechen.

Wenn wir nun im nachfolgenden trotzdem einen größeren Kraftverbrauch nach der Stärkefütterung sehen, so ist damit um so einwandfreier bewiesen, daß die physikalische Beschaffenheit der zugeführten Nahrung und die durch diese bedingten

Vorgänge im Verdauungsapparat von entscheidendem Einfluß auf die Größe des Stoffverbrauchs sind.

Man kann annehmen, daß die in diesen Versuchen verabreichte Kohlenhydratmenge mehr als den 24stündigen Energiebedarf des Tieres deckte. Der aus dem Respirationsversuch berechnete Bedarf des absolut ruhenden und nüchternen Tieres beträgt nur 23 Cal. pro Stunde.

Außer den vor den Zucker- und Stärkeversuchen ausgeführten Nüchternversuchen dienten zu dieser Berechnung noch weitere Nüchternversuche, die nicht in direktem Anschluß an eine der Versuchsreihen ausgeführt wurden. Die aus ihnen berechneten wesentlichen Daten sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

Tabelle XVI.

Datum	Nüchtern	Atemvolumen pro Minute absolut Liter	Atemvolumen pro Minute reduziert Liter	CO_2 %	O_2 %	N %	CO_2-Abgabe ccm pro Min.	O_2-Defizit	O_2-Aufnahme ccm pro Min.	Respir. Quotient	Calorien
12. II. 10	24 Std.	2,16	1,943	3,20	17,01	79,77	62,18	4,105	79,77	0,78	381,03
26. II. 10	24 „	2,05	1,836	3,18	16,80	80,00	58,41	4,376	80,38	0,727	370,83
	24 „	1,94	1,733	3,22	16,74	80,01	55,81	4,439	76,93	0,725	
28. II. 10	29 „	1,94	1,774	3,11	16,805	80,06	55,06	4,378	77,67	0,709	352,46
	29 „	1,76	1,607	3,08	16,685	80,21	49,48	4,546	73,04	0,68	
3. III. 10	20 „	2,13	1,943	3,14	17,035	79,80	60,66	4,088	78,91	0,768	374,30
	20 „	2,13	1,943	3,23	17,08	79,67	62,38	4,008	77,41	0,806	

171 g Trockenstärke mit einer Verbrennungswärme von 714,78 Cal. würden den Bedarf von $\frac{714}{23} = 31$ Stunden decken.

Andererseits würden 224,28 g Trockenglucose mit einer Verbrennungswärme von 839,4 Cal. den Bedarf von 36,5 Stunden decken.

In weiteren Versuchen wurden nur 100 g Stärke = 85,5 g Trockensubstanz verabreicht, die bei einem Brennwert von 357,4 Cal. den Bedarf von 15,5 Stunden decken würden.

Demgegenüber wurden 112 g Glucose entsprechend 105,1 g Trockensubstanz verabreicht, die bei einem Brennwert von 391,3 Cal. den Energiebedarf von 17 Stunden decken würden.

Um den Einfluß der Nahrung auf den Kraftumsatz besser zu übersehen, wurde in der schon angegebenen Weise nach

Tabelle XVII.

Versuch	Nüchtern	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4	4 1/2	5	5 1/2	6	6 1/2	7	7 1/2	8	8 1/2	9	9 1/2
		a) Energieumsatz nach Fütterung von 171 g Trockenstärke. Stunden nach Aufnahme der Nahrung																		
1		542,5	565,7		564,4			568,6				564,2			585,8	558,0				
2		508,5			529,8									555,1		556,5	571,1			
6													427,8			401,2		362,5		349,2
		b) Energieumsatz nach Fütterung von 224,28 g Trockenglucose.																		
3	441,9		544,1		553,0		554,9		555,3											
4	447,1	536,8		512,3							543,2	527,6	516,4							
5													387,1		411,1			416,9		377,3
7	394,6		424,6			451,9			433,7			441,5								

Tabelle XVIII.

Versuch	Nüchtern	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	3 1/2	4	4 1/2	5	5 1/2	6	6 1/2	7	7 1/2	8	8 1/2	9
		a) Energieumsatz nach Fütterung von 85,5 g Trockenstärke. Stunden nach Aufnahme der Nahrung																	
8	395,2			479,4			506,9		552,9										
11					390,2						(417,5)				(387,9)			(386,2)	
12				436,5				394,8					396,2				378,7		
13	390,0		412,5				408,6				402,4				394,0				
15	349,4		428,5				401,5				376,3				380,7				
		b) Energieumsatz nach Fütterung von 105,1 g Trockenglucose.																	
9	372,3			416,4				465,8			452,2			353,3					
10	397,8				409,0						468,0			444,8			372,7		
14	382,2		424,1				430,7				451,7					371,7			

Zuntz und Schumburg aus dem Sauerstoffverbrauch und der Kohlensäureausscheidung die Energieentwicklung berechnet. Dabei wurde von dem unter den Versuchsbedingungen offenbar sehr geringen Eiweißumsatz des Tieres ganz abgesehen, was darum zulässig ist, weil der Eiweißumsatz bei hungernden und dann mit Kohlenhydraten gefütterten Tieren nur sehr gering ist, außerdem aber die Abweichung des calorischen Wertes des Sauerstoffs bei Eiweißzersetzung von demjenigen bei Zersetzung eines Gemisches von Kohlenhydraten und Fetten nicht erheblich ist. Sie durfte um so mehr vernachlässigt werden, als es sich ja um Vergleichung von Versuchsreihen handelte, bei denen in einem Falle Stärke, im andern Glucose annähernd den gleichen Einfluß auf die Größe des Eiweißzerfalles ausüben mußte.

Die so berechnete Größe des Energieumsatzes ergibt sich für die verschiedenen in Vergleich zu stellenden Fütterungsreihen aus den vorhergehenden Tabellen XVII und XVIII.

Ich lasse nun eine Zusammenstellung sämtlicher Werte für den Energieumsatz im Nüchternzustand folgen. Die Zahlen, welche die pro Minute erzeugten Calorien ausdrücken, ergeben sich aus den Nüchternversuchen, die einerseits vor der Stärkezufuhr, andererseits vor der Zuckerzufuhr ausgeführt wurden; daneben führe ich die aus den nicht in direktem Anschluß an die Versuchsreihen unternommenen Nüchternversuchen (Tab. XVI) gefundenen Calorienwerte an:

Tabelle XIX.

Energieumsatz des nüchternen Tieres in kleinen Calorien pro Minute.

Versuch	Nüchternwert vor Stärkezufuhr	Versuch	Nüchternwert vor Zuckerzufuhr	Nüchternwert aus selbständ. Vers.
8	395,2	3	441,9	381,0
13	390,0	4	447,1	370,8
15	349,4	7	394,6	352,5
		9	372,3	374,3
		10	397,8	
		14	382,2	

Das Mittel aus der Summe sämtlicher Nüchternwerte ergibt einen Energieverbrauch von 388,4 cal. pro Minute.

Berechnung der Ergebnisse.

Um den Effekt der Stärke und des Zuckers auf die Verdauungsarbeit zahlenmäßig noch etwas genauer zu ermitteln, habe ich aus dem auf die einzelnen Respirationsversuche fallenden Lungengaswechsel den Energiewert pro Minute berechnet, von diesem das Mittel sämtlicher Ruhewerte subtrahiert und die Restzahl mit der zugehörigen Zeit multipliziert. Auf diese Weise finden wir die Größe der durch das betreffende Kohlenhydrat bewirkten Steigerung der Wärmeproduktion. Die so für die einzelnen Versuchsstunden gefundenen Werte für das Plus an Wärmeproduktion werden für die ganze Versuchsdauer bis zur Rückkehr des Gaswechsels zum Nüchternwert summiert und ergeben somit die Gesamtsteigerung der Energieentwicklung.

Bei den Versuchen mit 171 g Trockenstärke ergeben sich folgende Zahlen:

Die durch das Kohlenhydrat bewirkte Steigerung beträgt für die

erst. $2^1/_2$ Std.	$2^1/_2$—$5^1/_2$ Std.	$5^1/_2$—$8^1/_2$ Std.
542,2	566,4	502,25
— 388,4 (nücht.)	— 388,4	— 388,40
× 150	× 180	× 180
23070 cal.	32040 cal.	20493 cal.

Hieraus ergibt sich, daß die mit den 171 g Trockenstärk dem Körper zugeführten 714,78 Cal. eine Steigerung von 75603 cal. bewirkt haben.

Diese Zahl erleidet eine Korrektur wegen des mit der Stärke gegebenen Fettes. Nach Magnus-Levy erfordern 40 g Fett eine Verdauungsarbeit von 9,5 Cal. Diese sind abzuziehen von den 75603 cal. Bleiben 66,1 Cal.

Für 100 Cal. der zugeführten Stärke ergibt sich demnach eine Steigerung von 9,25 Cal.

Bei den Versuchen mit 224,28 g Trockenglucose lauten die entsprechenden Zahlen:

erst. $2^1/_2$ Std.	$2^1/_2$—$5^1/_2$ Std.	$5^1/_2$—$8^1/_2$ Std.
503,8	509,4	432,88
— 388,4 (nücht.)	— 388,4	— 388,4
× 150	× 180	× 180
17310 cal.	21780 cal.	8006 cal.

Hieraus ergibt sich, daß die mit den 224,28 g Trockenglucose zugeführten 839,4 Cal. eine Steigerung von 47096 cal. bewirkt haben.

Auf 100 Cal. des zugeführten Zuckers entfallen demnach 5,61 Cal., während wir auf 100 Cal. der Stärke eine Steigerung von 9,25 Cal. gefunden hatten.

Das Resultat dieser Versuche ist also, daß nach Stärkenahrung eine erheblichere Steigerung der Energieentwicklung zu bemerken ist als nach Zuckeraufnahme.

Bei den Versuchen mit 85,5 g Trockenstärke ergeben sich folgende Zahlen:

erst. $2^{1}/_{2}$ Std.	$2^{1}/_{2}$—$4^{1}/_{2}$ Std.
429,44	452,97
— 388,4 (nücht.)	— 388,4
× 150	× 120
6156 cal.	7748 cal.

In den späteren Stunden sank die Energieentwicklung bis etwas unter den Nüchternwert.

Die also mit den 85,5 g Trockenstärke gegebenen 357,4 Cal. bewirkten eine Steigerung von 13904 cal.

Von dieser Zahl ist gleichfalls wieder der Calorienwert des mit den 100 g Stärke gegebenen Fettes abzuziehen. 10 g Fett erfordern nach *Magnus-Levy* (s. o.) eine Verdauungsarbeit von 2375 cal. Die durch 85,5 g Trockenstärke bewirkte Steigerung beträgt demnach 11529 cal.

Auf 100 Cal. der zugeführten Stärke entfallen demnach 3,23 Cal.

Bei den entsprechenden Versuchen mit Traubenzucker, wobei 105,1 g Glucose verabreicht wurden, ergeben sich folgende Zahlen:

erst. $2^{1}/_{2}$ Std.	$2^{1}/_{2}$—$4^{1}/_{2}$ Std.
416,5	448,23
— 388,4 (nücht.)	— 388,4
× 150	× 120
4215 cal.	7180 cal.

In dem 4. Versuch der Versuchsreihe 10, der $6^{1}/_{2}$ Stunden nach Aufnahme des Zuckers ausgeführt wurde, finden wir für

die Wärmeentwicklung pro Minute eine außergewöhnlich hohe Zahl (444,8 cal.). Man darf vielleicht annehmen, daß der Hund, der am Versuchstage zuweilen Brechreiz zeigte, während dieses Versuches wieder dazu neigte, wodurch sich der hohe Wert des Energieumsatzes für diese Zeit erklären ließe.

Für die 393,3 Cal., die mit den 105,1 g Glucose verabreicht wurden, ergibt sich demnach unter ausschließlicher Berücksichtigung der in den ersten 5 Stunden gefundenen Zahlen eine Steigerung von 11366,1 cal.

Auf 100 Cal. des zugeführten Zuckers entfallen demnach 2,9 Cal., während wir bei den entsprechenden Stärkeversuchen eine Steigerung von 3,23 % gefunden hatten. Wenn wir auch die späteren Versuchsstunden, in denen nach der Stärkefütterung bereits der Nüchternwert erreicht war, in Betracht ziehen, ist die totale Steigerung der Oxydationen nach der kleinen Gabe von Traubenzucker etwas beträchtlicher als nach Stärke. Ich erinnere zur Erklärung an die bekannte ärztliche Erfahrung, daß kleine Stärkemengen beruhigend auf den Darm wirken, während Zucker die Peristaltik eher anregt.

Der Befund, daß kleine Nahrungsmengen anscheinend eine geringere Verdauungsarbeit erfordern als größere, verdient noch näher geprüft zu werden.

Es knüpft sich daran die Frage, ob es rationeller ist, selten große oder häufiger kleine Mahlzeiten bei Tieren und Menschen zu verabreichen.

Kritik der Berechnung des Energieumsatzes ohne Kenntnis des Sauerstoffverbrauchs.

Bedeutungsvoll für die Kritik vieler älterer Stoffwechselversuche und der auf diesen gegründeten Berechnung des Energieumsatzes im Körper ist das Verhalten der respiratorischen Quotienten in meinen Versuchen.

Bekanntlich nimmt die Voitsche Schule an, daß bei Verabreichung von Kohlenhydraten zunächst diese vollständig verbrennen und erst, soweit sie nicht ausreichen, Fett zur Bestreitung der Bedürfnisse des Körpers herangezogen wird. Daß diese Annahme nicht richtig ist, geht schon aus älteren im hiesigen Institut angestellten Versuchen, in denen nach Kohlenhydratfütterung der respiratorische Quotient relativ niedrig blieb,

unzweifelhaft hervor. Ferner ist die Unrichtigkeit dieser Annahme ganz besonders eklatant durch die Versuche von Benedict[1]) am hungernden Menschen dargetan. In diesen Versuchen wurde nach mehrtägigem Hunger fast das ganze mit der Nahrung verabreichte Kohlenhydrat aufgespeichert und dafür Körperfett verbrannt. Dieser Befund steht auch in voller Übereinstimmung mit allen Untersuchungen über die Glykogenaufspeicherung im Tierkörper. Es ist bekannt, daß Tiere, die vorher gehungert hatten oder längere Zeit eine wesentlich aus Eiweiß und Fett bestehende Kost erhielten, nach Zufuhr von Zucker oder Stärke innerhalb der nächsten 12 Stunden eine enorme Aufspeicherung von Glykogen in der Leber und in den Muskeln aufwiesen.

Da die Kohlensäure, die aus der Verbrennung von Kohlenhydraten stammt, eine um etwa 20% geringere Wärmemenge entwickelt als diejenige, die aus der Verbrennung von Fett resultiert, müssen alle Energieberechnungen nach dem Voitschen Verfahren in derartigen Fällen fehlerhaft sein. Dies wurde schon von Zuntz in seinem Bericht über die von Herrn Steck[2]) ausgeführten Versuche genauer ausgeführt. Die Fehler dieser Berechnung kommen auch bei der Veranschlagung der „spezifisch-dynamischen Wirkung" der Kohlenhydrate, verglichen mit der der Fette, wie sie Rubner[3]) ausgeführt hat, wesentlich in Betracht. Es soll hierauf jetzt näher eingegangen werden.

Wir wollen zunächst die Resultate einiger meiner Versuche so berechnen, wie dies Heilner und andere Schüler von Voit in ihren Versuchen nach der Fütterung von Kohlenhydraten an Hungertiere getan haben, und die so gewonnenen Resultate mit den unter Berücksichtigung der respiratorischen Quotienten gefundenen vergleichen.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich auch die Größe des Fehlers, der durch Vernachlässigung des Eiweißzerfalles in meinen Rechnungen begangen wurde, klarlegen.

In dem Versuch 13 vom 19. April 1910 hatte der 16,1 kg wiegende Hund vor Verabreichung von 85,5 g Trockenstärke

[1]) F. G. Benedict, Influence of inanition on Metabolism, Washington, Carnegie Inst. 1907.
[2]) Zuntz, Verhdl. d. Physiol. Ges. 1909, 6.
[3]) Rubner, Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung. Leipzig, Wien 1902. S. 323 u. 332.

2 Tage lang gehungert. Vorher erhielt er 4 Tage lang täglich 300 g Fleisch und 50 g Schmalz, mit denen 735 Cal. dem Körper zugeführt wurden. Gemäß meinen Respirationsversuchen hatte der Hund in jener Zeit einen Nüchternverbrauch von 560 Cal.

Unter den angegebenen Umständen können wir den N-Umsatz am zweiten Hungertage auf ca. 5 g veranschlagen. Nun bedeutet 1 g im Harn erscheinenden Stickstoffes einen Verbrauch von 5,8 l O_2 unter Erzeugung von 4,6 l CO_2 und 27 Cal.[1])

Aus dem Eiweißzerfall kann man also bei dem nüchternen Hund einen Verbrauch von 29 l O_2, eine Ausscheidung von 23 l CO_2, entsprechend einem Energieumsatz von 135 Cal. ableiten.

Der Gaswechsel des nüchternen Tieres betrug an diesem Tage (vgl. Tab. XIII) pro Minute 83,68 ccm O_2 und 56,795 ccm CO_2. Mit 1440 multipliziert, ergibt sich hieraus der Nüchternumsatz des ganzen Tages zu 120,5 l O_2 und 81,78 l CO_2. Subtrahiert man hiervon den auf die Eiweißzersetzung entfallenden Anteil mit 29 l O_2 und 23 l CO_2, so bleiben 91,5 l O_2; 58,78 l CO_2 aus N-freier Substanz. Der respiratorische Quotient ist also $\frac{58,78}{91,5} = 0,64$. Hieraus ergibt sich durch Extrapolation der von Zuntz und Schumburg berechneten Tabelle die Energiemenge zu 421,6 Cal. Addiert man hierzu die aus der Zersetzung des Eiweißes resultierende Energiemenge = 135 Cal., so ergibt sich ein Gesamtnüchternverbrauch von 556,6 Cal.

Wenn wir nun im Gegensatz zu vorstehender Berechnung den Eiweißzerfall nicht berücksichtigen, so gestaltet sich die Berechnung desselben Versuches folgendermaßen:

Der Gesamtnüchternverbrauch des Tieres betrug an diesem Tage, wie vorstehend angegeben wurde, 120,5 l O_2 bei einer Ausscheidung von 81.78 l CO_2. Aus diesen Zahlen resultiert ein respiratorischer Quotient von 0,679. Aus diesem und der O_2-Aufnahme ergibt sich nach der Tabelle von Zuntz-Schumburg ein Tagesverbrauch von 560,5 Cal., während wir bei der obigen Rechnung einen solchen von 556,6 Cal. gefunden hatten. Beide Zahlen kommen sich sehr nahe.

---

[1]) Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Höhenklima, Berlin 1905, S. 103.

Der Fehler, den wir in diesem Versuche durch Nichtberücksichtigung des N-Umsatzes begangen hatten, ist also ganz minimal.

Dieselbe Kontrolle wollen wir nun auch vornehmen an der Berechnung des Energieumsatzes nach Aufnahme der Stärke.

Wie aus Tabelle XIII ersichtlich, war nach Zufuhr von 85,5 g Trockenstärke in den ersten 5 Stunden der Verdauung ein Verbrauch von 88,96 ccm O_2, 87,21 ccm O_2, 85,14 ccm O_2 bei einer Ausscheidung von 58,77 ccm CO_2, 60,77 ccm CO_2, 62,75 ccm CO_2 festzustellen. Die Summe der je 3-Minutenwerte für O_2 und CO_2 mit 120 multipliziert, ergibt einen Gesamtgaswechsel für 6 Stunden von 31,356 l O_2 und 21,875 l CO_2.

Wie aus den Versuchen von Heilner[1]) hervorgeht, beträgt der N-Umsatz am Kohlenhydrat-Tage nur 75% desjenigen vom vorhergehenden Hungertage; in unserem Falle also 3,75 g N; für die 6 Stunden unserer Versuchsreihe also 0,94 g N entsprechend 5,45 l O_2, 4,32 l CO_2; 25,4 Cal. Wenn man diesen auf den Eiweißzerfall entfallenden Anteil von dem Gesamtumsatz, der zu 31,36 l O_2 und 21,87 l CO_2 berechnet wurde, subtrahiert, so erhält man einen auf N-freie Stoffe zu beziehenden Verbrauch von 25,91 l O_2 bei einer Ausscheidung von 17,55 l CO_2, die einem respiratorischen Quotienten von 0,677 und 120,4 Cal. entsprechen.

Der Gesamtverbrauch, gebildet aus dem N-freien Anteil und dem Eiweißzerfall beträgt 120,4 Cal. + 25,4 Cal. = 145,8 Cal.

Zur Kontrolle unseres bei der gewöhnlichen Rechnung begangenen Fehlers stellen wir jetzt die Berechnung an, ohne den Eiweißzerfall zu berücksichtigen.

Wie vorstehend angegeben, betrug der aus den Respirationsversuchen berechnete Gesamtumsatz in 6 Stunden 21,87 l CO_2 und 31,36 l O_2, welche Werte einem respiratorischen Quotienten von 0,698 entsprechen. Hieraus berechnet sich die Gesamtenergieentwicklung zu 146,5 Cal., während wir bei der Berechnung desselben Versuches unter Berücksichtigung des N-Umsatzes 145,8 Cal. gefunden hatten.

Man sieht hieraus, wie wenig fehlerhaft es war, unsere Berechnungen unter Vernachlässigung des Eiweißumsatzes auszuführen.

---

[1]) Heilner, Zeitschr. f. Biol. 48. 191 und 192.

Heilner würde unter der Annahme, daß alle CO_2, die nicht aus Eiweiß stammt, der Verbrennung von Stärke resp. Zucker zuzuschreiben ist, den oben angeführten Versuch vom 19. April folgendermaßen berechnen:

Wie vorstehend angegeben, hatten wir für 24 Stunden eine Gesamtausscheidung von 81,78 l CO_2 gefunden; demnach für 6 Stunden 20,45 l CO_2.

Nun entspricht 1 l CO_2 = 0,53672 g C; also 20,45 l CO_2 = 10,976 g C.

Die N-Ausscheidung beträgt für 6 Stunden 1,25 g N.

Nun bedeutet nach Heilner 1 g N = 2,4 Resp. Eiweiß-C und 25 Cal. Also entsprechen 1,25 g N = 3 g C mit 31,25 Cal.

Subtrahiert man diese sich aus dem Eiweißzerfall ergebenden 3 g C von den oben aus der Gesamtausscheidung der CO_2 berechneten 10,976 g C, so resultieren hieraus 7,976 g C, die der Fettverbrennung zuzuschreiben sind.

Nach Heilner entspricht 1 g Fett C = 12,42 Cal.

Die Fettverbrennung liefert demnach 99,06 Cal. Addiert man hierzu die sich aus der Eiweißzersetzung ergebenden 31,25 Cal., so erhält man als Gesamtenergieentwicklung für die 6 Stunden einen Nüchternumsatz von 130,31 Cal.

Wie oben bereits angegeben, beträgt der N-Umsatz am Kohlenhydrat-Tage 0,94 g N entsprechend 2,26 g C und 23,5 Cal. (da 1 g N = 2,4 Resp. Eiweiß-C und 25 Cal.).

Die Gesamtkohlensäureausscheidung betrug während der nach Aufnahme von 85,5 g Stärke 6 Stunden anhaltenden Verdauung 21,87 l CO_2 (s. o.) entsprechend 11,74 g C (da 1 l CO_2 = 0,53672 g C).

Subtrahiert man hiervon die auf den Zerfall des Eiweißes kommenden 2,26 g C, so ergeben sich 9,48 g C, die der Stärke zuzurechnen sind.

Nun bedeutet nach Heilner 1 g Dextrose C = 9,25 Cal.

Die aus der Stärke resultierende Energiemenge beträgt demnach 87,69 Cal. Hierzu kommen noch 23,5 Cal. aus dem Eiweißzerfall, so daß der Gesamtverbrauch nach der Stärkezufuhr 111,19 Cal. betragen würde. Demgegenüber fanden wir in der gleichen Zeit beim Hunger 130,31 Cal.

Die Voitsche Rechnung ergibt somit das paradoxe Resultat, daß der Energieumsatz nach Zufuhr der

Stärkenahrung erheblich niedriger wäre als für die gleiche Zeit im Hungerzustande.

Im folgenden gebe ich noch eine zweite derartige Rechnung für einen Versuch mit großen Kohlenhydratmengen.

Berechnung des Versuchs 3 nach dem Prinzip von Voit-Heilner.

Ich wähle den Versuch 3 vom 20. Januar 1910. Der Hund erhielt die Tage vorher täglich 125 g Fleisch mit Reis und Knochen. Dann hungerte das Tier ca. 43 Stunden.

Wir nehmen wieder an, daß in 6 Stunden 1,25 g N zersetzt wurden, entsprechend 3 g C und 31,25 Cal.

Nach der Tabelle III betrug die CO_2-Ausscheidung, auf 1 Minute berechnet:

a) 70,17 ccm,
b) 63,08 „

Die Summe beider Zahlen mit 180 multipliziert, ergibt eine Gesamtkohlensäure-Ausscheidung pro 6 Stunden von 23,985 l CO_2.

Es bedeutet 1 l CO_2 = 0,53672 g C. Demnach entsprechen 23,985 l CO_2 = 12,873 g C. Subtrahiert man hiervon die aus der Zersetzung des Eiweißes resultierenden 3 g C, so erhalten wir 9,873 g C, die der Fettverbrennung zuzuschreiben sind.

Nun ist nach Heilner 1 g Fett C = 12,42 Cal.

Die der Fettzersetzung entsprechende Energiemenge beträgt demnach 122,62 Cal. Addiert man hierzu die 31,25 Cal., die sich aus dem Eiweißzerfall ergeben, so erhält man eine 6stündige Wärmeproduktion von 153,87 Cal.

Der Hund erhielt an diesem Tage als Nahrung 224,3 g Trockenglucose.

Wie aus Tabelle III ersichtlich, gestalteten sich der Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureausscheidung nach der Zuckeraufnahme in den Respirationsversuchen folgendermaßen:

nach	1 Stunde	112,45 ccm O_2;	93,75 ccm CO_2,
„	2 Stunden	112,57 „ „	99,79 „ „
„	3 „	113,81 „ „	97,99 „ „
„	$4^1/_2$ „	114,48 „ „	93,95 „ „
	Summe	453,31 ccm O_2;	385,48 ccm CO_2.

Die Summe dieser Werte mit 90 multipliziert, ergibt den Gesamtgaswechsel von 6 Stunden zu 40,798 l O_2 und 34,693 l CO_2 = 18,62 g C (da 1 l CO_2 = 0,53672 g C).

Unter der Annahme, daß der Eiweißumsatz am Kohlenhydrat-Tage um 25 % geringer ist als am vorhergehenden Hungertage, müssen wir in dieser Rechnung den Eiweißzerfall auf 2,26 g C entsprechend 23,5 Cal. veranschlagen.

Subtrahieren wir diese 2,26 g C von den oben aus dem Gesamtgaswechsel gefundenen 18,62 g C, so ergeben sich 16,36 g C, die dem Zucker zuzuschreiben sind. Diese entsprechen (da 1 g Dextrose C = 9,25 Cal.) einer Energieentwicklung von 151,3 Cal. Hierzu kommen nun noch die dem Eiweißzerfall entsprechenden 23,5 Cal., so daß wir nach Zufuhr des Zuckers eine Gesamtwärmeentwicklung von 174,8 Cal. erhalten, gegenüber 153,87 Cal. in der gleichen Zeit beim Hunger.

Berechnung des Versuchs 3 nach dem Zuntzschen Prinzip.

Nach Tabelle III betrug die O_2-Aufnahme im Nüchternzustand für 1 Minute berechnet:

a) 95,25 ccm O_2,
b) 93,19 „ „

Die Summe dieser Zahlen mit 180 multipliziert, ergibt eine 6stündige Gesamtaufnahme von 33,919 l O_2. Die 6stündige CO_2-Ausscheidung im Nüchternzustand wurde vorstehend zu 23,98 l CO_2 berechnet.

Der Hund scheidet in 6 Stunden $^5/_4$ g N aus, entsprechend 7,25 l O_2; 5,75 l CO_2; 33,75 Cal. (1 g N = 5,8 l O_2, 4,6 l CO_2, 27 Cal.). Subtrahiert man diesen auf den Eiweißzerfall entfallenden Anteil an O_2 und CO_2 von den oben gefundenen 33,919 l O_2 und 23,98 l CO_2, so ergeben sich 26,67 l O_2 und 18,23 l CO_2, die der Zersetzung von N-freier Substanz entsprechen. Aus beiden Zahlen ergibt sich ein respiratorischer Quotient von 0,684. Aus diesem und dem Wert für die O_2-Aufnahme berechnet sich nach der Tabelle von Zuntz-Schumburg eine Energieentwicklung von 124,2 Cal. Addiert man hierzu die aus dem N-Umsatz resultierenden 33,75 Cal., so erhält man eine Gesamtwärmeproduktion von 157,95 Cal.

im Nüchternzustand, während sich nach der Rechnung von Voit-Heilner der hier ziemlich nahekommende Wert von 153,87 Cal. ergibt.

Nach Zufuhr des Zuckers erhielten wir, wie vorstehend angegeben, während der 6 Stunden der Verdauung 40,798 l O_2 und 34,693 l CO_2.

Subtrahiert man hiervon den auf den Eiweißzerfall kommenden Anteil mit 5,45 l O_2 und 4,32 l CO_2, so ergeben sich 35,35 l O_2 und 30,37 l CO_2, die der Zersetzung von N-freier Substanz entsprechen. Aus diesen beiden Zahlen berechnet sich der respiratorische Quotient zu 0,859. Es resultiert ferner aus diesem und der Sauerstoffaufnahme eine Energieentwicklung von 172,3 Cal. Addiert man hierzu die dem Eiweißzerfall entsprechenden 25,4 Cal., so ergibt sich nach Zufuhr des Zuckers eine Gesamtwärmeproduktion von 197,7 Cal., während Heilner nur 174,8 Cal. für die gleiche Zeit berechnet haben würde.

Nach unserer Rechnung ergibt sich also eine Steigerung von 157,95 Cal. im Nüchternzustand auf 197,7 Cal. nach der Zuckerzufuhr = 25 %. Dagegen würde nach der Rechnung von Heilner eine Steigerung von 153,9 Cal. auf 174,8 Cal. = 13,6 % resultieren.

Würden wir nur einen 24stündigen Respirationsversuch zur Verfügung haben, so hätten wir nach Heilner nur ein Plus von 3,4 % am Fütterungstage gefunden; d. h. einen fast innerhalb der Fehlergrenzen liegenden Wert.

Um noch in anderer Weise zu zeigen, wie fehlerhaft es ist, anzunehmen, daß das vorher hungernde Tier nach Kohlenhydratzufuhr so lange kein Fett verbrennt, bis das zugeführte Kohlenhydrat aufgebraucht ist, wollen wir in dem zuletzt behandelten Falle, in dem die Kohlenhydratnahrung besonders hoch war, die Verteilung der Oxydation auf Fett und Kohlenhydrate berechnen:

Wir haben auf 35,35 l O_2, 30,37 l CO_2.

Nennen wir nun den zur Fettverbrennung benutzten Sauerstoff = x l, dann kommen auf Kohlenhydrat (35,35 — x) l. Da auf 1 l O_2 bei Fett 0,707 l CO_2 bei Kohlenhydrat 1,00 l CO_2 gebildet werden, gilt für die gebildete CO_2 folgende Gleichung:

$$0{,}707\,x + 35{,}35 - x = 30{,}37.$$

Hieraus ergibt sich x = 16,99 l O_2 für die Fettverbrennung.

Subtrahiert man diesen Wert von den 35,35 l O_2, so resultieren hieraus 18,36 l O_2 für die Verbrennung der Kohlenhydrate.

Da nun 2,019 l O_2 zur Verbrennung von 1 g Fett und 0,839 l O_2 zur Verbrennung von 1 g Traubenzucker erforderlich sind, so berechnet sich der Gesamtumsatz des Tieres auf $\frac{16,99}{2,019}$ = 8,4 g Fett; ferner $\frac{18,36}{0,839}$ = 21,88 g Zucker; und $0,94 \times 6,25$ = 5,91 g Eiweiß.

Trotzdem also 224,28 g Traubenzucker zur Verfügung standen, wurden in 6 Stunden nur 21,88 g Zucker umgesetzt und noch 8,4 g Körperfett, unter reichlichem Ansatz von Glykogen.

Meine Versuche bestätigen also wieder, daß die verabreichten Kohlenhydrate zunächst in erheblichem Umfange aufgespeichert werden. Das geht aus den in vorstehenden Versuchsprotokollen mitgeteilten respiratorischen Quotienten hervor. Die Aufspeicherung ist bei allen meinen Versuchen, in denen ja das Tier stets wenigstens 24 Stunden gehungert hatte, sehr deutlich. Sie tritt aber in geradezu überraschender Weise zutage in jenen Versuchen, in denen einige Tage vorher die Kost ausschließlich aus Fleisch und Fett bestand. Hier gehen die Quotienten zuweilen noch nach Verabreichung des Kohlenhydrats unter 0,71, den Wert der reinen Fettverbrennung herunter. Bei der guten Übereinstimmung, die meine Doppelanalysen der CO_2 und des O_2 durchgehend aufweisen, können diese niedrigen Werte nicht wohl auf Versuchsfehlern beruhen. Nehmen wir einmal an, die extremsten, nur selten in den Doppelanalysen vorkommenden Abweichungen (0,06 %) fielen einmal so aus, daß sie einen maximalen Fehler des Quotienten bedingten, d. h. es wäre gleichzeitig etwa die Kohlensäurebestimmung um 0,06 zu niedrig, die Sauerstoffbestimmung um 0,06 zu hoch ausgefallen, so würde daraus eine Abweichung im Quotienten von drei Einheiten in der zweiten Dezimale resultieren.

Da aber, wie dies z. B. in Versuch 13 der Fall ist, dreimal hintereinander der Quotient 0,68, 0,66, 0,70 beträgt, so

kann man jedenfalls mit Bestimmtheit behaupten, daß Kohlenhydrate am Stoffwechsel keinen Anteil nehmen, daß wahrscheinlich sogar eine Bildung solcher aus anderem Material (Eiweiß oder Fett) stattgefunden hat.

Um die Zuverlässigkeit der respiratorischen Quotienten zu illustrieren, gebe ich für die 20 ersten und 20 letzten Analysen die je mit demselben Gas ausgeführten Doppelbestimmungen.

Tabelle XX.

	CO_2	O_2
Versuch 1.		
1.	2,98; 2,94	17,54; 17,56
2.	3,08; 3,02	17,48; 17,54
3.	3,02; 3,03	17,66; 17,61
4.	3,08; 3,06	17,49; 17,53
5.	2,95; 2,89	17,90: 17,96
6.	2,08; 2,07	18,60; 18,64
7.	2,24; 2,24	18,54; 18,56
Versuch 2.		
1.	3,31; 3,28	17,10; 17,16
2.	3,58; 3,52	16,79; 16,77
3.	3,39; 3,45	17,12; 17,06
4.	3,50; 3,45	17,10; 17,13
5.	3,45; 3,40	17,14; 17,19
Versuch 3.		
1.	3,80; 3,77	16,07; 16,10
2.	3,61; 3,62	15,94; 15,99
3.	3,69; 3,67	16,69; 16,70
4.	3,64; 3,63	16,93; 16,96
5.	3,52; 3,48	17,02; 17,00
6.	3,57; 3,58	16,81; 16,86
Versuch 4.		
1.	3,21; 3,18	17,32; 17,35
2.	3,21; 3,18	17,45; 17,47
Versuch 15.		
1.	3,17; 3,11	16,48; 16,51
2.	3,25; 3,31	16,38; 16,43
3.	3,23; 3,21	16,67; 16,69
4.	3,09; 3,07	16,78; 16,83
5.	3,21; 3,18	16,87; 16,93
Versuch 14.		
1.	3,10; 3,14	16,67; 16,71
2.	3,33; 3,28	16,90; 16,89
3.	3,34; 3,29	16,80; 16,84
4.	3,41; 3,36	16,89; 16,93
5.	3,23; 3,19	16,72; 16,75
Versuch 13.		
1.	3,19; 3,19	16,57; 16,59
2.	3,48; 3,52	16,04; 16,00
3.	3,42; 3,38	16,42; 16,37
4.	3,57; 3,54	16,40; 16,40
5.	3,79; 3,80	16,02; 16,05
Versuch 12.		
1.	2,66; 2,63	17,61; 17,56
2.	3,01; 3,01	17,29; 17,26
3.	2,91; 2,93	17,41; 17,46
4.	3,08; 3,06	17,18; 17,24
Versuch 11.		
1.	3,12; 3,09	17,00; 17,06

Wenn ich zum Schluß das Resultat meiner Versuche noch einmal kurz zusammenfasse, so haben die Versuche mit den größeren Mengen von Stärke und Zucker ergeben, daß **bei Stärkefütterung im Laufe von 8 Stunden pro 100 verdaute Cal. 9,25 Cal. über den Nüchternbedarf im Tierkörper erzeugt wurden, während diese Steigerung auf 100 Cal. Traubenzucker nur 5,61 Cal. betrug.**

Bei der zweiten Versuchsreihe mit den geringeren Mengen von Kohlenhydraten ist die Steigerung nach Stärke nicht nachweisbar größer als nach Zucker. Bei diesen geringen Mengen von Kohlenhydraten ist die absolute Steigerung gegenüber den Schwankungen der Nüchternwerte so gering, daß man nicht mit

Sicherheit sagen kann, ob die geringere Verdauungsarbeit bei den kleineren Kohlenhydratmengen nicht durch zufällige Versuchsfehler vorgetäuscht ist.

Wir müssen es also dahingestellt sein lassen, ob die Arbeit der Verdauungsorgane bezogen auf die Einheit des verabreichten Kohlenhydrats bei knapper Kost eine geringere ist als bei abundanter.

Nach der älteren, von Rubner und Heilner zur Berechnung ihrer Versuche benutzten Hypothese würde man annehmen, daß die ganze während der 8 stündigen Verdauungsperiode ausgeschiedene Kohlensäure, soweit sie nicht dem zerfallenden Eiweiß entstammt, aus Kohlenhydraten abzuleiten wäre.

Das ist jedoch nicht der Fall. Aus den relativ niedrigen respiratorischen Quotienten geht vielmehr hervor, daß das Tier, das vor Verabreichung der großen Kohlenhydratmengen ein bis 2 Tage gehungert hatte, zunächst den größten Teil der Kohlenhydrate der Nahrung als Glykogen aufspeicherte und dafür Fett verbrauchte.

Die Bedeutung des mechanischen Teils der Verdauungsarbeit für den Stoffwechsel des Rindes.

Von

Karl Dahm.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 2. September 1910.)

Mit 2 Figuren im Text.

Ende der 80er und anfangs der 90er Jahre des vorigen Jahrhunderts stellten Zuntz, Lehmann und Hagemann (1) umfassende Stoffwechselversuche verbunden mit Respirationsversuchen an, wodurch der Stoffumsatz des Pferdes für verschiedene Fütterungsmodifikationen und alle in Betracht kommenden Variationen der Arbeitsleistung klar gelegt wurde. Diese Versuche sowohl wie diejenigen von Zuntz-Schumburg (2), Heinemann (3), Frentzel (4), Magnus-Levy (5), Zuntz, Loewy, Müller, Caspari (6) haben bewiesen, daß die Zuntzsche Methode des Respirationsversuches für eine große Reihe von Fragen an Genauigkeit und Zuverlässigkeit nichts zu wünschen übrig läßt.

Respirationsversuche nach dem Pettenkoferschen Verfahren im Verein mit Stoffwechselversuchen am Rinde wurden bekanntlich zuerst von Henneberg und Stohmann in Göttingen (7) ausgeführt und haben in den letzten Jahren besonders in der Hand Kellners (8) in Möckern und Armsbys in State College, Pennsylvania (9), hier verbunden mit calorimetrischen Messungen, unsere Kenntnisse vom Stoffwechsel und der Ernährung des Rindes bereichert. Nach der Zuntzschen Methode hat als erster Pächtner (10) an der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin im Auftrage von N. Zuntz

Respirationsversuche am Rinde angestellt, die uns wertvolle Daten lieferten über den Lungengaswechsel des Rindes und über die Beeinflussung desselben durch die wechselnde Intensität der Verdauung sowie durch Kauarbeit und Wiederkauen.

Herr Geheimrat Zuntz betraute mich nun im März 1909 mit der Aufgabe, im Anschluß an die Pächtnersche Arbeit weiteres Zahlenmaterial zu gewinnen. Er selbst hatte die Güte, die Einzelheiten der Versuchsanordnung zu überwachen und die ständige Leitung der ganzen Versuche persönlich zu übernehmen. Wesentliche Unterstützung bei Ausführung der Arbeit erfuhr ich von den Herren Dr. Pächtner, Glikin, Cronheim und Caspari sowie durch den gleichzeitig mit mir im Institut arbeitenden Kollegen Steck gen. Schulte-Abteloh.

Vorliegende Arbeit sollte im speziellen einigen Aufschluß darüber geben, wie die durch wechselnden Gehalt des Futters an Rohfaser geänderte mechanische Verdauungsarbeit den Stoffwechsel des Tieres beeinflußt. Als Grundlage dienten zwei Ernährungsreihen, eine rohfaserreiche und eine solche, in der der Rohfasergehalt so weit vermindert und durch entsprechende Mengen leicht verdaulicher Nährstoffe (Roggenschrot) ersetzt wurde, als es mit der Gesundheit des Tieres verträglich erschien. Nach genügend langer Vorfütterung — nicht weniger als 14 Tage — wurde für jede der zwei Fütterungsformen (Heuperiode: 5 kg Heu, 1 kg Schrot; Mehlperiode: 1,5 kg Heu und 2,5 kg Schrot) in einer je 10tägigen Versuchsreihe die Stickstoffbilanz festgestellt. Für jede dieser Ernährungsperioden wurde nun täglich, immer unter Wahrung gleicher äußerer Bedingungen, morgens nüchtern der respiratorische Gaswechsel, der um diese Zeit natürlich am niedrigsten war, untersucht. Die so gefundenen Zahlen geben für beide Fütterungsmodi die Grundwerte, d. h. die relativen Nüchternwerte ab, auf die alle anderen zu beziehen sind. Um weiterhin die Beeinflussung des Gaswechsels durch Verdauungstätigkeit über 24 Stunden hinweg zu ermitteln, wurden nach Beendigung der quantitativen Kot- und Harnsammlung jeder Versuchsreihe 24-Stunden-Versuche in der Art ausgeführt, daß an einem Tage von früh morgens bis spät abends, und am nächsten Abend um dieselbe Zeit beginnend bis zum andern Morgen in 2stündigen Intervallen je ein Respirationsversuch erfolgte. Während dieser

Versuche fand die Fütterung in normaler Weise zwischen den Respirationsversuchen statt. Hierdurch war es ermöglicht, ein deutliches Bild zu geben von dem Wechsel der Größe des Energieaufwandes unter dem Einfluß der verschiedenen Fütterungen und der seit der letzten Nahrungsaufnahme verflossenen Zeit. Aus der aus dem Stoffwechselversuch ersichtlichen Menge aufgenommener resp. verdauter Nahrung ist schließlich die tägliche Energiezufuhr, aus dem Mittel der 24-Stunden-Respirationsversuche. die faktisch stattgehabte Energieabgabe pro die zu berechnen. Die Differenz dieser Größen ergibt für beide Fütterungskombinationen den täglichen Ansatz, der sich unter Berücksichtigung des im Harn ausgeschiedenen Stickstoffs und des respiratorischen Quotienten auf Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate genau repartieren läßt.

Als Versuchstier diente ein im Wachstum begriffener junger Bulle gewöhnlicher Landrasse, der bei seiner Einstellung ins Institut am 27. März 1909 gut $^1/_2$ Jahr und zu Beginn der eigentlichen Versuche annähernd $^3/_4$ jährig sein mochte. Sein damaliges Körpergewicht betrug 220 kg. Beim Ankauf des Tieres hatte es sich hauptsächlich darum gehandelt, ein möglichst rauhes und unverwöhntes Stück herauszufinden, das jedes Futter gern fressen und sich auch den geplanten mehrmaligen Fütterungswechsel anstandslos gefallen lassen würde. In dieser Beziehung hat der Bulle die Erwartung übertroffen. Er hat sich durchweg als ein ausgezeichneter „Fresser" bewährt, was vornehmlich während der Zeit der Stoffwechselversuche die Arbeit ganz wesentlich erleichterte und das Zurückwiegen und Analysieren von Futterresten ersparte. Die ersten Wochen nach der Einstellung ins Institut dienten dazu, das Tier etwas herauszufüttern und auf einen befriedigenden Ernährungszustand zu bringen. Die Fütterung bestand in dieser Zeit aus Heu, Roggenschrot und Rüben ungefähr zu gleichen Teilen. Gleichzeitig diente diese Zeit dazu, die Tracheotomie vorzunehmen und das Tier in der Folge durch öftere Übung an die Auswechselung des Dauertracheotubus mit der beim Respirationsversuch zu verwendenden, nach Trendelenburg modifizierten Tamponkanüle sowie an das ausschließliche Atmen durch die Kanüle nach Verschluß des Weges zur Nasen- und Maulhöhle zu gewöhnen. Des weiteren galt es, den Bullen allmählich auf

die für die Rauhfutterperiode vorgesehene Tagesration (5 kg Heu und 1 kg Schrot) zu bringen. Die Verabreichung von Rüben wurde nach und nach völlig eingestellt, das Schrot auf 1 kg reduziert und in täglich wachsenden Portionen Heu mehr verfüttert.

Dabei merkte ich, daß das Tier diese täglich ansteigenden Quantitäten Rauhfutter nur dann wirklich aufzehrte, wenn es tagsüber sehr häufig getränkt wurde. Ich brachte daher über der Krippe eine automatische Tränkvorrichtung an, die, an die Wasserleitung angeschlossen, leicht zu füllen war und den Tränkeimer stets genügend mit Wasser versorgte. Die konsumierte Wassermenge konnte morgens unschwer am geeichten Behälter abgelesen werden. Diese Vorrichtung hat sich namentlich während der Stoffwechselversuche gut bewährt, sie ersparte das zeitraubende Zurückwiegen der dargereichten Menge zwecks Bestimmung des getrunkenen Quantums und spendete zudem ein immer gleich temperiertes Trinkwasser.

Anfangs Mai war nun das Tier einmal auf den auch für den Stoffwechselversuch (Periode I) gewünschten Rauhfuttermodus genügend eingefüttert, des anderen an die ganze Versuchsanordnung durch ständige Vorübung so gewöhnt, daß die ersten, für die Periode I einschlägigen Respirationsversuche beginnen konnten. Auf die Beschreibung der beim Respirationsversuche angewandten Methoden möchte ich mich hier der Kürze halber nicht einlassen und nur auf die bezüglichen Abhandlungen von Zuntz, Lehmann, Hagemann, Magnus-Levy u. a. verweisen, wo dieselbe in ausführlicher Weise niedergelegt ist; desgleichen auf die schon erwähnte Arbeit von Pächtner, da hier speziell die Versuchsanstellung beim Rinde beschrieben und in einigen ausgezeichneten Abbildungen sehr übersichtlich und anschaulich zur Darstellung gebracht ist. Das Auffangen einer genauen Durchschnittsprobe der während des Versuches exspirierten Luft in geeigneten Glaszylindern, die Anstellung und Durchführung der Analyse dieser Luftprobe auf ihren Kohlensäure-, Sauerstoff- und Stickstoffgehalt mittels des Zuntzschen Analysenapparates sowie schließlich die Ermittlung der aus den Werten der Gasanalyse rein rechnerisch gewonnenen Endresultate eines jeden Versuchs ist bei den genannten Autoren gleichfalls eingehend dargelegt.

Ich möchte hier nur einiger Einzelheiten Erwähnung tun, die mir für die bessere Durchführung und Genauigkeit des Versuchs beachtenswert erschienen. Zur Beseitigung des schädlichen Raumes waren die Atmungsventile, die bisher erst auf dem Rücken des Tieres, also über 1 m von der Kanüle entfernt, in die Atmungsschläuche eingeschaltet wurden, gleich an das T-Stück der Tamponkanüle unmittelbar angeschlossen. Die Tamponkanüle selbst wurde durch einen elastischen Gummischlauch, der dem Tiere über den Nacken lief, in ihrer Lage gehalten. Zwecks Vermeidung von Reizungen der Trachealschleimhaut durch die Last und das unvermeidliche Pendeln des Ein- und Ausatmungsschlauches, sowie der immerhin schweren Glasventile wurden letztere ebenfalls durch einen Gummischlauch derart fixiert, daß sie sich senkrechtstehend den Halsseiten anschmiegten. Bei dieser Anordnung fühlte sich das Tier so wohl, daß während der ganzen Respirationsversuche forcierte Atmung oder gar Husten eine relativ seltene Erscheinung blieb. Da zur Anstellung eines Respirationsversuches beim Rinde mindestens zwei Personen nötig sind, einer, der die Gasuhr und die an derselben befindlichen Thermometer abliest, ein zweiter, der über das gesamte Verhalten und jede Bewegung des Tieres genau Protokoll führt und überdies bereit ist, bei unerwarteten Zwischenfällen einzuspringen, hatte Herr Kollege Steck die große Freundlichkeit, mir bei der größeren Anzahl aller Respirationsversuche behilflich zu sein. Die Gasuhr war in einem neben dem Stande des Bullen befindlichen leeren Seitenstand aufgestellt, was zwar einen etwas längeren Exspirationsschlauch erforderte, dafür aber den Vorteil bot, daß wir bei allen unseren Hantierungen dem Tiere nicht zu nahe kamen, das dadurch während des Versuchs völlig unbehelligt blieb. Der Protokollführende stand an die Wand zwischen den beiden Ständen gelehnt und beobachtete das Tier über dieselbe hinweg.

In folgendem sei nun kurz die genaue Anordnung und Ausführung des Stoffwechselversuches wiedergegeben. Wie schon eingangs erwähnt, handelt es sich um zwei 10tägige Stoffwechselversuche. Beim ersten, der vom 23. Juni bis 2. Juli dauerte, betrug die täglich verfütterte Ration 5 kg Heu und 1 kg Schrot; der zweite dauert vom 20. bis 29. Juli, wobei

täglich 1,5 kg Heu und 2,5 kg Schrot verabreicht wurden. Das Heu, ein mittelgutes Wiesenheu, wurde in gehäckseltem Zustande verfüttert. Schon im Mai war es in den für beide Versuchsreihen gewünschten Quantitäten abgewogen und in einzelnen Säcken auch für die Vorfütterung in genügender Anzahl bereitgestellt. Vorher war eine genaue Durchschnittsprobe genommen worden, die ebenfalls gehäckselt unter den gleichen Bedingungen wie das übrige aufbewahrt wurde. Das Schrot entnahmen wir täglich einem Doppelzentnersack, wobei wir jedesmal aliquote Teile in eine Flasche zur späteren Analyse einfüllten. Da der Bulle vorher an Salzlecke gewöhnt war, wurden ihm auch während der Versuche 15 g Kochsalz pro die aufs Futter gestreut, wovon nichts verloren ging. Die Methoden des quantitativen Auffangens von Kot und Harn waren vor Beginn des Versuches ausprobiert. Ein anfänglich geplanter Kotbeutel, der dem Tiere hinten angeschnallt wurde, bot zwar die Sicherheit, daß nichts vorbeiging, weil der ganze Akt der Kotentleerung völlig versteckt sich vollzog, konnte aber trotzdem keine Anwendung finden, weil das Tier durch die ungewohnte Last, die über Nacht bis annähernd 10 kg anstieg, kopfscheu geworden, sich losriß und im Stall herumtobte. Wir mußten uns daher dazu verstehen, den Kot im Moment der Entleerung mit der Handschippe aufzufangen, wobei der Bulle natürlich ohne Streu auf blankem Zementboden stand. Es erforderte dies naturgemäß eine ständige Bewachung des Tieres, in der wir uns, Herr Kollege Steck, ich und ein sehr geschickter Diener gegenseitig ablösten. Das war durch die zweimal zehn Tage und Nächte hindurch wohl keine kleine Arbeit, aber sie hatte dafür auch den erfreulichen Erfolg, daß im ersten 10-Tage-Versuch im ganzen viermal, im zweiten nur zweimal Kot auf die Erde kam, wo er sofort mittels Spatels entfernt und die Stelle mit dem sogenannten später noch zu besprechenden „Kotstandwasser“ gereinigt wurde. Der Harn wurde durch einen undurchlässigen, aus japanischem Fettleder hergestellten Harntrichter aufgefangen, dessen oberer Rand 30 cm Durchmesser hatte. Der Sicherheit halber war für eventuelle Verschiebungen an den oberen Rand ein ca. 15 cm breiter Streifen aus gleichem Materiale angenäht, so daß schlechterdings kein Harn vorbeigehen konnte. Der ganze Trichter war nun in ein

sackartiges, starkes Tuch eingelassen, das dem Bullen die ganze untere Partie des Rumpfes von den Ellbogenhöckern bis zu den Kniefalten reichend bedeckte, und wurde durch zwei über den Rücken laufende, breite, leicht an- und abschnallbare Riemen nach Art eines Pferdegeschirrs bequem getragen und in der Lage gehalten. Aus diesem Trichter lief der Harn durch einen starkwandigen Gummischlauch, der durch das in der Mitte des Standes befindliche Loch in den Keller führte, in eine daselbst aufgestellte große Harnflasche. Diese war verkorkt und der Harn lief durch eine den Korken passierende Glasröhre hinein, während die vom Harn verdrängte Luft durch ein zweites Röhrchen mit sehr feiner Öffnung nach außen ausweichen konnte. Beim 24-Stunden-Abschluß des Morgens wurde der Harn in eine Auswechselflasche geleitet, bis die alte Flasche wieder disponibel war. Im übrigen war die ganze Stalleinrichtung, die erst eben beim Neubau des Tierphysiologischen Instituts fertiggestellt worden war, gerade für den Stoffwechselversuch eine äußerst zweckmäßige. Die vertikal und horizontal verstellbare Krippe ermöglichte es, einmal zur Fütterung die vorteilhafteste Lage, bei der das Tier am wenigsten Futter verschleuderte, auszuprobieren, andererseits die für den ungehinderten Harnabfluß durch den erwähnten Gummischlauch günstigste Stellung zu wählen. Zur Verhinderung allzu großer Seitwärts- und Rückwärtsbewegungen konnte der Stand durch geeignete Vorrichtungen beschränkt werden. Zur Aufnahme des Tageskotes waren geräumige, gut verschließbare Zinkkästen in den Zementboden des Standes eingelassen, die bequem auszuwechseln waren. Einige Tage vor Beginn einer jeden Versuchsreihe wurde der Bulle mit Striegel und Kardätsche täglich mit der gleichen Intensität und gleich lange, wie später im Versuch selbst, gründlich geputzt, weil die gesamten Epidermisabfälle gesammelt, auf ihren N-Gehalt analysiert und mit in Verrechnung gebracht werden sollten. Die letzten Vorbereitungen zum Stoffwechselversuch bestanden nun noch darin, daß unter der Krippe in ihrer ganzen Breite, dieselbe nach vorn und hinten überragend, ein reines Leinentuch ausgespannt wurde, um eventuell aus der Krippe fallende Futterteile aufzufangen. Dasselbe wurde im Versuch selbst abends nach der letzten Mahlzeit mittels Handbesens rein aus-

gefegt und die wenigen Überreste wieder in die Krippe gelegt, wo sie das Tier sofort aufzehrte. Der Zementboden des Standes — der Bulle stand, wie bereits erwähnt, während der Versuche ohne jede Streu — wurde gründlich gescheuert, die Wände sauber abgewaschen und auch die Klauen und Beine des Versuchstieres bis zu den Carpal- resp. Sprunggelenken mit warmem Wasser abgewaschen. Zur besseren Veranschaulichung der Ermittelung der in den unten aufgeführten Stoffwechseltabellen verzeichneten Werte sei unsere Tätigkeit während eines Stoffwechselversuchtages in kurzen Strichen geschildert.

Nach Messung der Körpertemperatur erfolgte morgens zuerst der Respirationsversuch. Derselbe fiel in Periode I in die Zeit von 7 bis 8 Uhr früh, in Periode II von 9 bis 10 Uhr, im ersten Falle ca. 12, im zweiten ca. 13 Stunden nach der letzten Futteraufnahme. Hiernach kam der Tagesabschluß. Glücklicherweise wurde der letzte Harn und Kot der Vorperiode mit einem Zwischenraum von nur wenigen Minuten entleert. Der Harntrichter wurde jetzt abgeschnallt, und der Bulle ohne Geschirr auf einer großen Dezimalwage gewogen. Sodann wurde er 10 Minuten lang gestriegelt, die Epidermisabfälle sorgsam gesammelt, gewogen und für die ganze Periode in einer Glasflasche zur späteren Analyse verwahrt. Währenddessen beobachtete einer das Tier, um ev. Kot und Harn aufzufangen. Gleichzeitig wurde der ganze Stand mit 2 l klarem Wasser gereinigt und diese Flüssigkeit, das „Kotstandwasser", mittels eines Scheuertuches aufgenommen und in eine besondere Flasche ausgerungen, in derselben gut durchgemischt und täglich $^1/_{10}$ der Menge für die N-Bestimmung aufgehoben. Der Harntrichter wurde mit 1 l destilliertem Wasser ausgespült, dasselbe als „Harnspülwasser" wieder aufgefangen und aufbewahrt. Später wurde dieses gleichfalls analysiert und sein N-Gehalt dem des Harns vom gleichen Tage zuaddiert. Schließlich wurde das Tier noch genau besichtigt, in seinen Stand zurückgeführt, der Harntrichter wieder angeschnallt, und der Behälter für den Tageskot ausgewechselt. Der in 24 Stunden abgesetzte Kot wurde nun gewogen, gründlich durchmischt, $^1/_{10}$ der Menge auf ein Blech ausgebreitet und noch am selben Tage im Vakuumapparat bei einer Temperatur von 60 bis 70° C getrocknet. Das bei dieser Trocknung sich kondensierende Wasser, sowie

die im Apparat aufgestellte konzentrierte Schwefelsäure wurden später analysiert. Der 24-Stunden-Harn wurde gleichfalls gewogen, Farbe, spezifisches Gewicht und Reaktion festgestellt und genügende Mengen mit Thymol konserviert geborgen. Nach Beendigung des Versuches wurden alle so gesammelten Werte nach Kjeldahl auf ihren N-Gehalt analysiert. Die zu verfütternde Tagesration wurde in 5 Teilportionen zwischen 8 und 10, 10 und 12, 12 und 2, 4 und 6 und 6 und 8 Uhr verabreicht. Während der ganzen Versuche war ständig jemand zur Beobachtung des Tieres im Stall, wo des Nachts direkt hinter dem Stande ein zuverlässiger Diener sein Bett aufgeschlagen hatte.

Im folgenden lasse ich nun die Resultate der einzelnen Versuchstage und am Schlusse einer jeden Periode die für die Verrechnung benutzten Durchschnittswerte tabellarisch folgen. Im Anschluß daran gebe ich die Respirationsversuche in laufender Reihenfolge.

Stoffwechselversuche.

I. Periode.

Täglich verfüttert und restlos aufgefressen:

5 kg Heu (gehäckselt) mit	66,4 g N
1 kg Roggenschrot mit	12,11 g N
N-Zufuhr	78,51 g,

außerdem 15 g Kochsalz.

1. Tag, 23. VI. 09: K[1]) 245 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 17,5 l.

13,85 kg Kot mit	34,323 g N
hierzu Kotstandwasser 3 l mit	0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	0,940 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	35,306 g
verdaut	43,204 g N
Harn 3,99 kg mit	29,92 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,045 g N
N im Harn	29,965 g
Im Körper angesetzt	13,239 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	12,924 g N.

[1]) K = Körpergewicht vor der morgendlichen Fütterung; Rt = Körpertemperatur, morgens im Rectum gemessen.

2. Tag, 24. VI. 09: K 237,5 kg, Rt 38,6° C, Trinkwasser 18,25 l.

14,2 kg Kot mit	32,689 g N
Standwasser und Kondensat	1,353 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	34,042 g
verdaut	44,468 g N
Harn 3,886 kg mit	26,31 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,059 g N
N im Harn	26,369 g
Im Körper angesetzt	18,099 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	17,784 g N.

3. Tag, 25. VI. 09: K 238,2 kg, Rt 38,6° C, Trinkwasser 18,5 l.

12,7 kg Kot mit	32,689 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	34,042 g
verdaut	44,468 g N
Harn 4,471 kg mit	26,79 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,032 g N
N im Harn	26,822 g
Im Körper angesetzt	17,646 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	17,331 g N.

4. Tag, 26. VI. 09: K 238 kg, Rt 38,6° C, Trinkwasser 21,5 l.

13,05 kg Kot mit	32,689 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	34,042 g
verdaut	44,468 g N
Harn 5,576 kg mit	26,42 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,141 g N
N im Harn	26,561 g
Im Körper angesetzt	17,907 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	17,592 g N.

5. Tag, 27. VI. 09: K 243 kg, Rt 38,6° C, Trinkwasser 18,3 l.

12,98 kg Kot mit	32,689 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	34,042 g
verdaut	44,468 g N
Harn 5,246 kg mit	20,960 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,112 g N
N im Harn	21,072 g
Im Körper angesetzt	23,396 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	23,081 g N.

6. Tag, 28. VI. 09: K 242 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 17,35 l.

11,99 kg Kot mit . . . . 33,506 g N
Kotstandwasser 3 l mit . . . . 0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat . . . . 1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Not 34,859 g
verdaut 43,651 g N
Harn 4,796 kg mit . . . . 23,58 g N
Harnspülwasser 1 l mit . . . . 0,095 g N
N im Harn 23,675 g
Im Körper angesetzt 19,976 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g . . . . 0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben 19,661 g N.

7. Tag, 29. VI. 09: K 242,5 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 17,3 l.

11,11 kg Kot mit . . . . 37,409 g N
Kotstandwasser 3 l mit . . . . 0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat . . . . 1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot 38,762 g
verdaut 39,748 g N
Harn 5,196 kg mit . . . . 23,65 g N
Harnspülwasser 1 l mit . . . . 0,092 g N
N im Harn 23,742 g
Im Körper angesetzt 16,006 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g . . . . 0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben 15,691 g N.

8. Tag, 30. VI. 09: K 244 kg, Rt 38,3° C, Trinkwasser 17,4 l.

11,44 kg Kot mit . . . . 32,689 g N
Kotstandwasser 3 l mit . . . . 0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat . . . . 1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot 34,042 g
verdaut 44,468 g N
Harn 4,596 kg mit . . . . 23,080 g N
Harnspülwasser 1 l mit . . . . 0,091 g N
N im Harn 23,171 g
Im Körper angesetzt 21,297 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g . . . . 0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben 20,982 g N.

9. Tag, 1. VII. 09: K 245 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 16,0 l.

11,62 kg Kot mit . . . . 32,689 g N
Kotstandwasser 3 l mit . . . . 0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat . . . . 1,310 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot 34,042 g
verdaut 44,468 g N
Harn 4,856 kg mit . . . . 22,79 g N
Harnspülwasser 1 l mit . . . . 0,104 g N
N im Harn 22,894 g
Im Körper angesetzt 21,574 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g . . . . 0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben 21,259 g N.

10. Tag, 2. VII. 09: K 246 kg, Rt 38,3° C, Trinkwasser 18 l.

11,32 kg Kot mit	34,323 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,043 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,270 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	35,636 g
verdaut	42,874 g N
Harn 4,796 kg mit	22,91 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,111 g N
N im Harn	23,021 g
Im Körper angesetzt	19,853 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	19,538 g N.

Mittelwerte

aus den 10 Stoffwechselversuchstagen zur I. Periode bei Rauhfütterung.

K 242,9 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 17,41 l.

Verfütterte Ration:

5 kg Heu (gehäckselt) mit	66,40 g N
1 kg Roggenschrot mit	12,11 g N
N-Zufuhr	78,51 g N,

außerdem 15 g Kochsalz.

Ausscheidungen:

12,426 kg Kot mit	33,669 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,043 g N
Kondenswasser	1,233 g N
vorgelegte Schwefelsäure	0,040 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	34,985 g
verdaut	43,525 g N
Harn mit	24,639 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,089 g N
N im Harn	24,728 g
Epidermisabfälle (im Mittel) 3,462 g . . .	0,315 g N
Im Körper zurückgeblieben	18,482 g N.

II. Periode.

Täglich verfüttert und restlos aufgezehrt:

1,5 kg Heu (gehäckselt) mit	19,92 g N
2,5 kg Roggenschrot mit	30,275 g N
N-Zufuhr	50,195 g,

außerdem 15 g Kochsalz.

1. Tag, 20. VII. 09: K 243,5 kg, Rt 38,5° C, Trinkwasser 9,6 l.

3,12 kg Kot mit	11,460 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	13,036 g
verdaut	37,159 g N
Harn 2,646 kg mit	21,19 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,072 g N
N im Harn	21,262 g
Im Körper angesetzt	15,897 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	15,702 g N.

2. Tag, 21. VII. 09: K 246,7 kg, Rt 38,5° C, Trinkwasser 11,7 l.

4,4 kg Kot mit	19,110 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	20,686 g
verdaut	29,509 g N
Harn 4,996 kg mit	24,13 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,011 g N
N im Harn	24,141 g
Im Körper angesetzt	5,368 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	5,173 g N.

3. Tag, 22. VII. 09: K 247 kg, Rt 38,5° C, Trinkwasser 7,1 l.

4,75 kg Kot mit	20,060 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	21,636 g
verdaut	28,559 g N
Harn 4,546 kg mit	24,22 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,057 g N
N im Harn	24,277 g
Im Körper angesetzt	4,282 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	4,087 g N.

4. Tag, 23. VII. 09: K 245,5 kg, Rt 38,5° C, Trinkwasser 12,7 l.

4,55 kg Kot mit	18,150 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	19,726 g
verdaut	30,469 g N
Harn 5,356 kg mit	21,39 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,048 g N
N im Harn	21,438 g
Im Körper angesetzt	9,031 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	8,836 g N.

5. Tag, 24. VII. 09: K 250 kg, Rt 38,1° C, Trinkwasser 12,1 l.

5,42 kg Kot mit	21,010 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	22,586 g
" verdaut	27,609 g N
Harn 5,146 kg mit	22,08 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,054 g N
N im Harn	22,134 g
Im Körper angesetzt	5,475 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	5,280 g N.

6. Tag, 25. VII. 09: K 248,7 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 12,15 l.

5,55 kg Kot mit	22,930 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	24,506 g
verdaut	25,689 g N
Harn 5,356 kg mit	19,71 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,067 g N
N im Harn	19,777 g
Im Körper angesetzt	5,912 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	5,717 g N.

7. Tag, 26. VII. 09: K 251,2 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 11,9 l.

5,65 kg Kot mit	23,870 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	25,446 g
verdaut	24,749 g N
Harn 5,246 kg mit	20,55 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,074 g N
N im Harn	20,624 g
Im Körper angesetzt	4,125 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	3,930 g N.

8. Tag, 27. VII. 09: K 253,5 kg, Rt 38,1° C, Trinkwasser 10,8 l.

5,8 kg Kot mit	23,870 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	25,446 g
verdaut	24,749 g N
Harn 5,096 g mit	19,38 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,089 g N
N im Harn	19,469 g
Im Körper angesetzt	5,280 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	5,085 g N.

9. Tag, 28. VII. 09: K 249 kg, Rt 38,3° C, Trinkwasser 10 l.

5,97 kg Kot mit	21,960 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	23,536 g
verdaut	26,659 g N
Harn 4,726 kg mit	17,48 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,086 g N
N im Harn	17,566 g
Im Körper angesetzt	9,093 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	8,898 g N.

10. Tag, 29. VII. 09: K 246,5 kg, Rt 38,3° C, Trinkwasser 10,8 l.

5,56 kg Kot mit	19,110 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondensat im Vakuumtrockenapparat	1,550 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	20,686 g
verdaut	29,509 g N
Harn 4,046 kg mit	17,93 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,053 g N
N im Harn	17,983 g
Im Körper angesetzt	11,526 g N
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	11,331 g N.

Mittelwerte aus den 10 Stoffwechselversuchstagen zur II. Periode bei Mehlfütterung.

K 248,6 kg, Rt 38,4° C, Trinkwasser 10,89 l.

Verfütterte Ration:

1,5 kg Heu (gehäckselt) mit	19,92 g N
2,5 kg Roggenschrot mit	30,275 g N
N-Zufuhr	50,195 g,

außerdem 15 g Kochsalz.

Ausscheidungen:

5,077 kg Kot mit	20,160 g N
Kotstandwasser 3 l mit	0,026 g N
Kondenswasser	1,460 g N
vorgelegte Schwefelsäure	0,090 g N
gesamte N-Ausscheidung durch Kot	21,736 g
verdaut	28,459 g N
Harn 4,716 kg mit	20,806 g N
Harnspülwasser 1 l mit	0,061 g N
N im Harn	20,867 g
Epidermisabfälle (im Mittel) 2,193 g . . .	0,195 g N
Im Körper zurückgeblieben	7,895 g N.

Protokolle der Respirationsversuche.

1.[1]) 21. V. 09: 12h 5—12h 28 = 23 Min., Fr 21, K 220 kg, Rt 38,7° C, Ba 768,37 mm, Gt 20,95° C, Wd 18,45 mm, P 749,92 mm, V 22,80 l, Vr 20,89 l, Ex sp. 3,91% CO_2, O-Def 4,77%, RQ 0,82, pro Min. 816,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 996,5 ccm, pro kg und Min. 3,713 ccm CO_2, O 4,530 ccm, Cal. 21,8; seit 16 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Verhalten leidlich ruhig.

2. 21. V. 09: 1h 47—2h 5 = 18 Min., Fr 18, K 220 kg, Rt 38,7° C, Ba 767,65 mm, Gt 21,13° C, Wd 18,65 mm, P 749,00 mm, V 27,36 l, Vr 25,02 l, Ex sp. 4,42% CO_2, O-Def 5,36%. RQ 0,82, pro Min. 1106 ccm CO_2, O-Verbrauch 1341 ccm, pro kg und Min. 5,026 ccm CO_2, O 6,097 ccm, Cal. 29,8; frißt während des ganzen Versuchs kontinuierlich 0,575 kg gehäckseltes Heu; steht während des ganzen Versuchs; Verhalten sonst ruhig.

3. 22. V. 09: 11h 39—11h 60 = 21 Min., Fr 23, K 219 kg, Rt 38,3° C, Ba 762,67 mm, Gt 20,84° C, Wd 18,33 mm, P 744,34 mm, V 26,40 l, Vr 24,02 l, Ex sp. 3,89% CO_2, O-Def 4,64%, RQ 0,84, pro Min. 934,3 ccm CO_2, O-Verbrauch 1114 ccm, pro kg und Min. 4,266 ccm CO_2, O 5,089 ccm, Cal. 24,6; 15½ Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Verhalten etwas unruhig (häufige Kopf- und Beinbewegungen).

4. 22. V. 09: 12h 45—1h 4 = 19 Min., Fr 21, K 219 kg, Rt 38,6° C, Ba 762,41 mm, Gt 21,30° C, Wd 18,84 mm, P 743,57 mm, V 28,11 l, Vr 25,51 l, Ex sp. 3,94% CO_2, O-Def 4,55%, RQ 0,87, pro Min. 1005 ccm CO_2, O-Verbrauch 1161 ccm, pro kg und Min. 4,589 ccm CO_2, O 5,300 ccm, Cal. 25,9; frißt während der ersten 13 Minuten des Versuchs 0,250 kg gehäckseltes Heu; steht während des ganzen Versuchs; Verhalten relativ ruhig.

5. 22. V. 09: 4h 5—4h 24 = 19 Min., Fr 23, K 219 kg, Rt 38,7° C, Ba 761,11 mm, Gt 21,26° C, Wd 18,79 mm, P 742,32 mm, V 28,08 l, Vr 25,44 l, Ex sp. 4,14% CO_2, O-Def 4,99%, RQ 0,83, pro Min. 1053 ccm CO_2, O-Verbrauch 1270 ccm, pro kg und Min. 4,810 ccm CO_2, O 5,797 ccm, Cal. 28,0; hat zwischen diesem und dem vorigen Versuch verzehrt: 0,5 kg Schrot, 0,5 kg Rüben, 0,6 kg gehäckseltes Heu; frißt während des Versuchs noch 15 Minuten am Heu, steht während des ganzen Versuchs; Verhalten ruhig.

---

[1]) In allen Protokollen der Respirationsversuche bedeutet: Fr = Zahl der Atemzüge pro Minute; K = Körpergewicht; Rt = im Rectum gemessene Körpertemperatur; Ba = den auf 0° reduzierten Barometerstand; Gt = das Mittel der am Eingang und Ausgang der Gasuhr gemessenen Temperatur; Wd = die diesen Temperaturen entsprechende Wasserdampfspannung; P = den Druck der trocken gedachten Exspirationsluft; V = das an der Gasuhr abgelesene, für den Kaliberfehler korrigierte Volum der Exspirationsluft; Vr = dasselbe auf 0° C, 760 mm und Trockenheit reduziert; Ex sp. = Zusammensetzung der ausgeatmeten Luft nach Abzug von 0,03% CO_2 in der inspirierten; O-Def = die Sauerstoffmenge, die 100 ccm ausgeatmete Luft weniger enthalten als die entsprechende eingeatmete; RQ = respiratorischer Quotient.

6. 3. VI. 09; 9^h 58—10^h 22 = 24 Min., Fr—*), K 220,5 kg, Rt 38,2° C, Ba 759,03 mm, Gt 20,56° C, Wd 18,00 mm, P 741,03 mm, V 22,01 l, Vr 19,92 l, Ex sp. 3,87 % CO_2, O-Def 5,06 %, RQ 0,76, pro Min. 771 ccm CO_2, O-Verbrauch 1008 ccm, pro kg und Min. 3,496 ccm CO_2, O 4,572 ccm, Cal. 21,7; 14 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs, will sich zum Schluß legen; Verhalten ziemlich ruhig.

*) Frequenz wurde nicht gezählt!

7. 3. VI. 09: 10^h 54—11^h 10 = 16 Min., K 220,5 kg, Rt 38,5° C, Ba 753,27 mm, Gt 20,85° C, Wd 18,33 mm, P 734,94 mm, V 31,26 l, Vr 28,11 l, Ex sp. 3,80 % CO_2, O-Def 4,63 %, RO 0,82, pro Min. 1067 ccm CO_2, O-Verbrauch 1300 ccm, pro kg und Min. 4,839 ccm CO_2, O 5,896 ccm, Cal. 28,4; frißt während des ganzen Versuchs ohne auszusetzen: 1,5 kg Schrot, 1,0 kg Rüben; steht während des ganzen Versuchs; Verhalten entsprechend ruhig.

8. 3. VI. 09: 12^h 56—1^h 17 = 21 Min., Fr 20, K 220,5 kg, Rt 38,6° C, Ba 753,02 mm, Gt 21,22° C, Wd 18,75 mm, P 734,27 mm, V 26,04 l, Vr 23,34 l, Ex sp. 4,14 % CO_2, O-Def 4,83 %, RQ 0,86, pro Min. 966,3 ccm CO_2, O-Verbrauch 1127 ccm, pro kg und Min. 4,382 ccm CO_2, O 5,113 ccm, Cal. 24,9; hat vorher verzehrt: 1,7 kg Heu, 2,5 l Wasser, exklusive dem im Versuch 7 Verzehrten; steht 11 Minuten, liegt 10 Minuten, Verhalten ruhig.

9. 5. VI. 09: 9^h 58—10^h 24 = 26 Min., Fr 20, K 228 kg, Rt 38,3° C, Ba 750,51 mm, Gt 21,37° C, Wd 18,92 mm, P 731,59 mm, V 20,74 l, Vr 18,51 l, Ex sp. 4,13 % CO_2, O-Def 5,18 %, RQ 0,80, pro Min. 764,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 959,0 ccm, pro kg und Min. 3,354 ccm CO_2, O 4,206 ccm, Cal. 20,2; 14 Stunden ungefüttert; steht 2 Minuten, liegt 24 Minuten; völlige Ruhe.

10. 5. VI. 09; 3^h 12—3^h 29 = 17 Min., Fr 28, K 228 kg, Rt 38,5° C, Ba 749,07 mm, Gt 22,38° C, Wd 20,11 mm, P 728,96 mm, V 31,95 l, Vr 28,32 l, Ex sp. 3,90 % CO_2, O-Def 4,58 %, RQ 0,85, pro Min. 1104 ccm CO_2, O-Verbrauch 1030 ccm, pro kg und Min. 4,844 ccm CO_2, O 4,519 ccm, Cal. 22,0; hat vorher verzehrt: 2,250 kg gehäckseltes Heu, 1,5 kg Schrot, 1,5 kg Rüben, 7,0 l Wasser, steht 10 Minuten, liegt 7 Minuten; beobachtet gute Ruhe.

11. 5. VI. 09: 3^h 39—3^h 46 = 7 Min., Fr 28, K 228 kg, Rt 38,4° C, Ba 748,96 mm, Gt 22,86° C, Wd 20,70 mm, P 728,26 mm, V 35,57 l, Vr 31,45 l, Ex sp. 3,72 % CO_2, O-Def 4,44 %, RQ 0,84, pro Min. 1170 ccm CO_2, O-Verbrauch 1396 ccm, pro kg und Min. 5,131 ccm CO_2, O 6,124 ccm, Cal. 30,0; Versuch wurde gleich im Anschluß an den vorigen angestellt; Tier steht im ganzen Versuch.

12. 17. VI. 09: 10^h 13—10^h 35 = 22 Min., Fr 23, K 232,5 kg, Rt 38,3° C, Ba 758,38 mm, Gt 21,44° C, Wd 18,90 mm, P 739,48 mm, V 23,50 l, Vr 21,20 l, Ex sp. 4,13 % CO_2, O-Def 4,88 %, RQ 0,85, pro Min. 875,5 ccm CO_2, O-Verbrauch 1034 ccm, pro kg und Min. 3,766 ccm CO_2, O 4,449 ccm, Cal. 21,6; 14 Stunden ungefüttert; liegt während des ganzen Versuchs (4 Min. lang direkter Schlaf); Verhalten völlig ruhig.

13. 17. VI. 09: 10^h 43—10^h 62 = 19 Min., Fr 19, 232,5 kg; Rt 38,4° C, Ba 758,85 mm, Gt 21,12° C, Wd 18,64 mm, P 740,21 mm, V 22,47 l,

Vr 20,38 l, Ex sp. 4,26 % CO_2, O-Def 5,13 %, RQ 0,83, pro Min. 868,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 1045 ccm, pro kg und Min. 3,734 ccm CO_2, O 4,497 ccm, Cal. 21,7; 14 1/2 Stunden ungefüttert; Versuch ist angestellt gleich im Anschluß an Versuch 12; Tier liegt durchgehends (13 Minuten direkter Schlaf); dauernd vollkommene Ruhe.

14. 18. VI. 09: $10^h 46$—$11^h 09$ = 23 Min., Fr 20, K 238,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 761,79 mm, Gt 21,42° C, Wd 18,98 mm, P 742,81 mm, V 24,37 l, Vr 22,08 l, Ex sp. 4,61 % CO_2, O-Def 4,96 %, RQ 0,93, pro Min. 1018 ccm CO_2, O-Verbrauch 1095 ccm, pro kg und Min. 4,268 ccm CO_2, O 4,593 ccm, Cal. 22,8; vorher verzehrt: 1,65 kg Heu (gehäckselt), 0,5 kg Schrot, 6,0 l Wasser; liegt während des ganzen Versuchs, vorher schon lange an die Gasuhr angeschlossen gelegen; vollkommene Ruhe.

15. 18. VI. 09: $11^h 20$—$11^h 30$ = 10 Min., Fr 23, K 238,5 kg, Rt 38,5° C, Ba 761,79 mm, Gt 21,94° C, Wd 19,59 mm, P 742,20 mm, V 25,10 l, Vr 22,69 l, Ex sp. 4,34 % CO_2, O-Def 4,98 %, RQ 0,87, pro Min. 984,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 1130 ccm, pro kg und Min. 4,128 ccm CO_2, O 4,737 ccm, Cal. 23,1; Versuch ist in unmittelbarem Anschluß an den vorigen angestellt; liegt durchweg (2 Min. direkter Schlaf); vollkommene Ruhe.

16. 19. VI. 09: $12^h 53$—$1^h 1$ = 8 Min., Fr 32, K 244 kg, Rt 38,8° C, Ba 763,23 mm, Gt 23,20° C, Wd 21,13 mm, P 742,10 mm, V 35,76 l, Vr 32,18 l, Ex sp. 3,59 % CO_2, O-Def 3,91 %, RQ 0,92, pro Min. 1155 ccm CO_2, O-Verbrauch 1258 ccm, pro kg und Min. 4,734 ccm CO_2, O 5,156 ccm, Cal. 25,5; vorher verzehrt: 3,7 kg Heu (gehäckselt), 0,5 kg Schrot, 11,5 l Wasser; steht während des ganzen Versuchs; kaut 2 Min. wieder; sonst gute Ruhe (nur etliche Kopfbewegungen).

17. 19. VI. 09: $1^h 29$—$1^h 50$ = 21 Min., Fr 27, K 244 kg, Rt 38,8° C, Ba 762,90 mm, Gt 22,59° C, Wd 20,36 mm, P 742,54 mm, V 24,99 l, Vr 22,55 l, Ex sp. 4,52 % CO_2, O-Def 5,08 %, RQ 0,89, pro Min. 1019 ccm CO_2, O-Verbrauch 1145 ccm, pro kg und Min. 4,177 ccm CO_2, O 4,694 ccm, Cal. 23,0; im Anschluß an Versuch 16 angestellt; liegt während des ganzen Versuchs (14 Min. direkter Schlaf); absolute Ruhe.

18. 24. VI. 09: $7^h 42$—$8^h 4$ = 22 Min., Fr 21, K 237,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 753,13 mm, Gt 20,42° C, Wd 17,85 mm, P 735,28 mm, V 23,35 l, Vr 21,02 l, Ex sp. 4,14 % CO_2, O-Def 5,08 %, RQ 0,81, pro Min. 863,7 ccm CO_2, O-Verbrauch 1068 ccm, pro kg und Min. 3,637 ccm CO_2, O 4,495 ccm, Cal. 21,6; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Tier verhält sich ruhig.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfutterperiode), 1. Tag.

19. 25. VI. 09: $7^h 38$—8^h = 22 Min., Fr 21, K 238,2 kg, Rt 38,6° C, Ba 754,02 mm, Gt 21,59° C, Wd 19,17 mm, P 734,85 mm, V 26,25 l, Vr 23,52 l, Ex sp. 3,88 % CO_2, O-Def 4,52 %, RQ 0,86, pro Min. 912,5 ccm CO_2, O-Verbrauch 1063 ccm, pro kg und Min. 3,831 ccm CO_2, O 4,463 ccm, Cal. 21,7; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; leichte Bewegung des Tieres.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfutterperiode), 2. Tag.

20. 26. VI. 09: 7h 56—8h 14 = 18 Min., Fr 20, K 238 kg, Rt 38,6° C, Ba 756,82 mm, Gt 20,78° C, Wd 18,24 mm, P 738,58 mm, V 23,85 l, Vr 21,46 l, Ex sp. 4,06 % CO_2, O-Def 4,86 %, RQ 0,84, pro Min. 871,4 ccm CO_2, O-Verbrauch 1043 ccm, pro kg und Min. 3,661 ccm CO_2, O 4,383 ccm, Cal. 21,2; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfütterungsperiode), 3. Tag.

21. 27. VI. 09: 7h 48—8h 6 = 18 Min., Fr 20, K 243 kg, Rt 38,6° C, Ba 756,80 mm, Gt 22,37° C, Wd 20,10 mm, P 736,70 mm, V 28,26 l, Vr 25,32 l, Ex sp. 3,63 % CO_2, O-Def 4,24 %, RQ 0,86, pro Min. 919 ccm CO_2, O-Verbrauch 1073 ccm, pro kg und Min. 3,782 ccm CO_2, O 4,417 ccm, Cal. 21,5; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; leichte Bewegung.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfütterungsperiode), 4. Tag.

22. 28. VI. 09: 7h 39—8h = 21 Min., Fr 18, K 242 kg, Rt 38,4° C, Ba 758,14 mm, Gt 20,74° C, Wd 18,20 mm, P 739,94 mm, V 24,26 l, Vr 21,95 l, Ex sp. 4,00 % CO_2, O-Def 4,82 %, RQ 0,83, pro Min. 878 ccm CO_2, O-Verbrauch 1058 ccm, pro kg und Min. 3,628 ccm CO_2, O 4,372 ccm, Cal. 21,1; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfutterperiode), 5. Tag.

23. 29. VI. 09: 7h 31—7h 51 = 20 Min., Fr 20, K 242,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 755,59 mm, Gt 20,06° C, Wd 17,47 mm, P 738,12 mm, V 25,96 l, Vr 23,48 l, Ex sp. 3,79 % CO_2, O-Def 4,47 %, RQ 0,85, pro Min. 890,1 ccm CO_2, O-Verbrauch 1050 ccm, pro kg und Min. 3,670 ccm CO_2, O 4,329 ccm, Cal. 21,0; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfütterungsperiode), 6. Tag.

24. 30. VI. 09: 7h 35—7h 54 = 19 Min., Fr 20, 244 kg, Rt 38,3° C, Ba 750,22 mm, Gt 20,80° C, Wd 18,28 mm, P 731,94 mm, V 27,26 l, Vr 24,39 l, Ex sp. 3,73 % CO_2, O-Def 4,36 %, RQ 0,86, pro Min. 909,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 1063 ccm, pro kg und Min. 3,729 ccm CO_2, O 4,359 ccm, Cal. 21,2; 12 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; leichte Bewegung.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfütterungsperiode), 7. Tag.

25. 1. VII. 09: 7h 35—7h 54 = 19 Min., Fr 20, K 245 kg, Rt 38,3° C, Ba 751,57 mm, Gt 21,30° C, Wd 18,84 mm, P 732,73 mm, V 26,73 l, Vr 23,90 l, Ex sp. 3,59 % CO_2, O-Def 4,41 %, RQ 0,81, pro Min. 858,1 ccm CO_2, O-Verbrauch 1054 ccm, pro kg und Min. 3,502 ccm CO_2, O 4,303 ccm, Cal. 20,7; 12 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs, Periode I (Rauhfütterungsperiode), 8. Tag.

26. 2. VII. 09: 7h 30—7h 52 = 22 Min., Fr 19, K 246 kg, Rt 38,4° C, Ba 757,28 mm, Gt 20,48° C, Wd 17,91 mm, P 739,37 mm, V 25,69 l, Vr 23,25 l, Ex sp. 3,85% CO_2, O-Def 4,51%, RQ 0,85, pro Min. 895 ccm CO_2, O-Verbrauch 1048 ccm, pro kg und Min. 3,638 ccm CO_2, O 4,262 ccm, Cal. 20,7; 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfütterungsperiode), 9. Tag.

27. 3. VII. 09: 7h 33—7h 51 = 22 Min., Fr 19, K 252,4 kg, Rt 38,2° C, Ba 762,30 mm, Gt 19,22° C, Wd 16,59 mm, P 745,71 mm, V 25,04 l, Vr 22,95 l, Ex sp. 4,02% CO_2, O-Def 4,66%, RQ 0,86, pro Min. 922,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 1070 ccm, pro kg und Min. 3,655 ccm CO_2, O 4,237 ccm, Cal. 20,6; 12 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode I (Rauhfütterung), 10. Tag.

28. 16. VII. 09: 10h 30—10h 48 = 18 Min., Fr 23, K 237,2 kg, Rt 38,9° C, Ba 757,40 mm, Gt 22,37° C, Wd 20,10 mm, P 737,30 mm, V 28,56 l, Vr 25,61 l, Ex sp. 3,72% CO_2, O-Def 4,55%, RQ 0,82, pro Min. 952,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 1165 ccm, pro kg und Min. 4,016 ccm CO_2, O 4,912 ccm, Cal. 23,7; hat vorher verzehrt: 0,4 kg Heu (gehäckselt), 0,25 kg Schrot; während des ganzen Versuchs stehend und wiederkauend; sonst relative Ruhe.

29. 17. VII. 09: 11h 25—11h 44 = 19 Min., Fr 21, K 238,5 kg, Rt 38,7° C, Ba 755,65 mm, Gt 22,10° C, Wd 19,78 mm, P 735,87 mm, V 27,88 l, Vr 24,97 l, Ex sp. 4,04% CO_2, O-Def 4,09%, RQ 0,99, pro Min. 1007 ccm CO_2, O-Verbrauch 1021 ccm, pro kg und Min. 4,230 ccm CO_2, O 4,282 ccm, Cal. 21,5; vorher verzehrt: 0,75 kg Heu (gehäckselt), 1,0 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; relative Ruhe.

30. 21. VII. 09: 9h 33—10h 3 = 30 Min., Fr 12, K 246,7 kg, Rt 38,5° C, Ba 757,01 mm, Gt 19,91° C, Wd 17,30 mm, P 739,71 mm, V 18,05 l, Vr 16,37 l, Ex sp. 4,23% CO_2, O-Def 5,73%, RQ 0,74, pro Min. 692,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 938,1 ccm, pro kg und Min. 2,807 ccm CO_2, O 3,803 ccm, Cal. 18,0; 13 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; leichte Bewegung.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 1. Tag.

31. 22. VII. 09: 8h 54—9h 19 = 25 Min., Fr 16, K 247 kg, Rt 38,5° C, Ba 756,60 mm, Gt 21,86° C, Wd 17,49 mm, P 739,11 mm, V 21,96 l, Vr 19,14 l, Ex sp. 3,90% CO_2, O-Def 4,66%, RQ 0,84, pro Min. 746,5 ccm CO_2, O-Verbrauch 892,0 ccm, pro kg und Min. 3,022 ccm CO_2, O 3,611 ccm, Cal. 17,5; 13 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 2. Tag.

32. 23. VII. 09: 9h 34—9h 57 = 23 Min., Fr 24, K 245,5 kg, Rt 38,5° C, Ba 753,30 mm, Gt 21,60° C, Wd 19,19 mm, P 734,11 mm, V 24,38 l, Vr 21,82 l, Ex sp. 3,74% CO_2, O-Def 4,33%, RQ 0,86, pro Min. 816,1 ccm

CO_2, O-Verbrauch 944,8 ccm, pro kg und Min. 3,324 ccm CO_2, O 3,849 ccm, Cal. 18,8; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Unruhe! (Versuch deshalb nicht mitverrechnet.)

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 3. Tag.

33. 24. VII. 09: 9h 35—9h 59 = 24 Min., Fr 20, K 250 kg, Rt 38,1° C, Ba 752,52 mm, Gt 20,93° C, Wd 18,42 mm, P 734,10 mm, V 21,29 l, Vr 19,10 l, Ex sp. 3,73 % CO_2, O-Def 4,69 %, RQ 0,80, pro Min. 712,4 ccm CO_2, O-Verbrauch 895,7 ccm, pro kg und Min. 2,849 ccm CO_2, O 3,583 ccm, Cal. 17,2; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 4. Tag.

34. 25. VII. 09: 9h 40—10h 4 = 24 Min., Fr 19, K 248,7 kg, Rt 38,4° C, Ba 755,96 mm, Gt 21,61° C, Wd 19,20 mm, P 736,76 mm, V 23,10 l, Vr 20,75 l, Ex sp. 3,47 % CO_2, O-Def 4,34 %, RQ 0,80, pro Min. 720,0 ccm CO_2, O-Verbrauch 900,5 ccm, pro kg und Min. 2,895 ccm CO_2, O 3,621 ccm, Cal. 17,4; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 5. Tag.

35. 26. VII. 09: 9h 11—9h 35 = 24 Min., Fr 20, K 251,25 kg, Rt 38,4° C, Ba 750,00 mm, Gt 22,75° C, Wd 20,57 mm, P 729,43 mm, V 23,89 l, Vr 21,16 l, Ex sp. 4,06 % CO_2, O-Def 4,74 %, RQ 0,86, pro Min. 859,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 1003 ccm, pro kg und Min. 3,420 ccm CO_2, O 3,993 ccm, Cal. 19,5; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; kaut die ersten 20 Min. wieder. Der Versuch ist daher zu den Ruhewerten dieser Periode nicht mitgerechnet.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 6. Tag.

36. 27. VII. 09: 9h 39—10h 5 = 26 Min., Fr 15, K 253,5 kg, Rt 38,1° C, Ba 758,35 mm, Gt 21,08° C, Wd 18,58 mm, P 739,77 mm, V 20,49 l, Vr 18,51 l, Ex sp. 4,27 % CO_2, O-Def 4,91 %, RQ 0,87, pro Min. 790,5 ccm CO_2, O-Verbrauch 909,0 ccm, pro kg und Min. 3,118 ccm CO_2, O 3,586 ccm, Cal. 17,5; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 7. Tag.

37. 28. VII. 09: 9h 33—9h 58 = 25 Min., Fr 18, K 249 kg, Rt 38,3° C, Ba 752,91 mm, Gt 21,97° C, Wd 19,62 mm, P 733,29 mm, V 23,08 l, Vr 20,61 l, Ex sp. 4,23 % CO_2, O-Def 4,58 %, RQ 0,92, pro Min. 871,7 ccm CO_2, O-Verbrauch 943,9 ccm, pro kg und Min. 3,501 ccm CO_2, O 3,791 ccm, Cal. 18,7; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Unruhe! (Belästigung durch Fliegen.) Versuch deshalb nicht mitverrechnet.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 8. Tag.

38. 29. VII. 09: 9h 17—9h 46 = 29 Min., Fr 15, K 246,5 kg, Rt 38,3° C Ba 753,71 mm, Gt 19,77° C, Wd 17,15 mm, P 736,56 mm, V 19,32 l, Vr 17,46 l, Ex sp. 4,06 % CO_2, O-Def 4,80 %, RQ 0,85, pro Min. 708,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 838,0 ccm, pro kg und Min. 2,875 ccm CO_2, O 3,399 ccm, Cal. 16,5; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 9. Tag.

39. 30. VII. 09: 9h 22—9h 47 = 25 Min., Fr. 15, K 247,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 751,06 mm, Gt 20,34° C, Wd 17,76 mm, P 733,30 mm, V 21,28 l, Vr 19,11 l, Ex sp. 4,16 % CO_2, O-Def 4,72 %, RQ 0,88, pro Min. 794,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 901,8 ccm, pro kg und Min. 3,211 ccm CO_2, O 3,644 ccm, Cal. 17,8; 13 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; Ruhe.

Angestellt während des Stoffwechselversuchs. Periode II (Mehlfütterung), 10. Tag.

40. 31. VII. 09: 10h 9—10h 33 = 24 Min., Fr 14, K 246,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 754,96 mm, Gt 20,07° C, Wd 17,47 mm, P 737,49 mm, V 23,14 l, Vr 20,91 l, Ex sp. 4,35 % CO_2, O-Def 4,74 %, RQ 0,92, pro Min. 909,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 991,4 ccm, pro kg und Min. 3,691 ccm CO_2, O 4,022 ccm, Cal. 19,9; vorher verzehrt: 0,5 kg Schrot, 0,3 kg Heu (gehäckselt); steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 1 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

41. 31. VII. 09: 12h 3—12h 22 = 19 Min., Fr 17, K 246,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 755,67 mm, Gt 21,18° C, Wd 18,69 mm, P 736,98 mm, V 27,42 l, Vr 24,67 l, Ex sp. 4,01 % CO_2, O-Def 4,30 %, RQ 0,93, pro Min. 989,4 ccm CO_2, O-Verbrauch 1061 ccm, pro kg und Min. 4,014 ccm CO_2, O 4,304 ccm, Cal. 21,3; vorher verzehrt: 0,5 kg Schrot, 0,3 kg Heu (gehäckselt); steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 2 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

42. 31. VII. 09: 2h 13—2h 34 = 21 Min., Fr. 18, K 246,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 755,89 mm, Gt 22,29° C, Wd 20,01 mm, P 735,88 mm, V 25,92 l, Vr 23,20 l, Ex sp. 4,29 % CO_2, O-Def 4,98 %, RQ 0,86, pro Min. 988,3 ccm CO_2, O-Verbrauch 1155 ccm, pro kg und Min. 4,009 ccm CO_2, O 4,687 ccm, Cal. 22,8; vorher verzehrt: 0,5 kg Schrot, 0,3 kg Heu (gehäckselt); steht 3 Min., liegt 18 Min.; gute Ruhe.

Vers. 3 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

43. 31. VII. 09: 4h 10—4h 31 = 21 Min., Fr 19, K 246,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 756,22 mm, Gt 22,43° C, Wd 20,17 mm, P 736,05 mm, V 25,73 l, Vr 23,02 l, Ex sp. 3,93 % CO_2, O-Def 4,88 %, RQ 0,81, pro Min. 904,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 1124 ccm, pro kg und Min. 3,671 ccm CO_2, O 4,558 ccm, Cal. 21,9; zwischen Vers. 42 und 43 nichts verzehrt; steht 10 Min., liegt 11 Min.; erst etwas Bewegung, dann volle Ruhe.

Vers. 4 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

44. 31. VII. 09: 6h 13—6h 38 = 25 Min., Fr 18, K 246,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 756,20 mm, Gt 21,65° C, Wd 19,24 mm, P 736,96 mm, V 22,86 l, Vr 20,54 l, Ex sp. 4,14 % CO_2, O-Def 5,11 %, RQ 0,81, pro Min. 850,2 ccm

CO_2, O-Verbrauch 1050 ccm, pro kg und Min. 3,449 ccm CO_2, O4,257 ccm, Cal. 20,5; verzehrt (vorher): 0,5 kg Schrot, 0,3 kg Heu (gehäckselt); steht 6 Min., liegt 19 Min.; volle Ruhe.

Vers. 5 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

45. 31. VII. 09: 8h 1—8h 23 = 22 Min., Fr 24, K 246,5 kg, Rt 38,4° C, Ba 756,27 mm, Gt 22,25° C, Wd 19,96 mm, P 736,31 mm, V 24,67 l, Vr 22,10 l, Ex sp. 4,42 % CO_2, O-Def. 4,70 %, RQ 0,94, pro Min. 976,7 ccm CO_2, O-Verbrauch 1039 ccm, pro kg und Min. 3,962 ccm CO_2, O 4,213 ccm, Cal. 20,9; vorher verzehrt: 0,5 kg Schrot, 0,3 kg Heu (gehäcks.); liegt während des ganzen Versuchs; totale Ruhe.

Vers. 6 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

46. 1. VIII. 09: 10h 8—10h 31 = 23 Min., Fr 18, K 245 kg, Rt 38,5° C, Ba 759,23 mm, Gt 21,62° C, Wd 19,21 mm, P 740,02 mm, V 25,73 l, Vr 23,21 l, Ex sp. 3,83 % CO_2, O-Def 4,37 %, RQ 0,88, pro Min. 889,0 ccm CO_2, O-Verbrauch 1014 ccm, pro kg und Min. 3,629 ccm CO_2, O 4,140 ccm, Cal. 20,3; vorher nichts verzehrt; steht 16 Min., liegt 7 Min.; anfangs etwas Unruhe.

Vers. 7 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

47. 1. VIII. 09: 12h 3—12h 32 = 29 Min., Fr 18, K 245 kg, Rt 38,5° C, Ba 759,41 mm, Gt 19,96° C, Wd 17,35 mm, P 742,06 mm, V 18,06 l, Vr 16,43 l, Ex sp. 4,44 % CO_2, O-Def 5,25 %, RQ 0,85, pro Min. 729,5 ccm CO_2, O-Verbrauch 862,6 ccm, pro kg und Min. 2,978 ccm CO_2, O 3,521 ccm, Cal. 17,1; nichts verzehrt; liegt während des ganzen Versuchs; kaut die letzten 6 Min. wieder; sonst totale Ruhe.

Vers. 8 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Mehlfütterung).

48. 2. VIII. 09: 2h 5—2h 37 = 32 Min., Fr 14, K 242 kg, Rt 38,6° C, Ba 758,92 mm, Gt 19,69° C, Wd 17,07 mm, P 741,85 mm, V 16,89 l, Vr 15,38 l, Ex sp. 4,50 % CO_2, O-Def 5,42 %, RQ 0,83, pro Min. 691,9 ccm CO_2, O-Verbrauch 833,4 ccm, pro kg und Min. 2,859 ccm CO_2, O 3,444 ccm, Cal. 16,7; nichts verzehrt; liegt während des ganzen Versuchs; totale Ruhe.

Vers. 9 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

49. 2. VIII. 09: 4h 41—5h 10 = 29 Min., Fr 16,8, K 242 kg, Rt 38,6° C, Ba 758,53 mm, Gt 19,83° C, Wd 17,22 mm, P 741,31 mm, V 18,24 l, Vr 16,58 l, Ex sp. 4,27 % CO_2, O-Def 5,03 %, RQ 0,85, pro Min. 708,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 834,2 ccm, pro kg und Min. 2,926 ccm CO_2, O 3,447 ccm, Cal. 16,8; nichts verzehrt; liegt während des ganzen Versuchs; kaut die ersten 8 Min. wieder; sonst volle Ruhe.

Vers. 10 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

50. 2. VIII. 09: 5h 57—6h 17 = 20 Min., Fr 18, K 242 kg, Rt 38,6° C, Ba 758,57 mm, Gt 19,61° C, Wd 16,99 mm, P 741,58 mm, V 20,47 l, Vr 18,63 l, Ex sp. 4,11 % CO_2, O-Def 5,26 %, RQ 0,78, pro Min. 765,8 ccm CO_2, O-Verbrauch 980,1 ccm, pro kg und Min. 3,164 ccm CO_2, O 4,050 ccm, Cal. 19,3; nichts verzehrt; liegt während des ganzen Versuchs; kaut durchgehends wieder; sonst totale Ruhe.

Vers. 11 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

51. 2. VIII. 09: 8h 20—8h 45 = 25 Min., Fr 14, K 242 kg, Rt 38,6° C, Ba 758,24 mm, Gt 20,05° C, Wd 17,45 mm, P 740,79 mm, V 20,94 l, Vr 19,01 l, Ex sp. 3,95 % CO_2, O-Def 4,67 %, RQ 0,85, pro Min. 751,0 ccm CO_2, O-Verbrauch 887,9 ccm, pro kg und Min. 3,103 ccm CO_2, O 3,669 ccm, Cal. 17,8; nichts verzehrt, 12 Stunden ungefüttert; steht 19 Min., liegt 6 Min.; leichte Bewegung.

Vers. 12 im 24-Stundenvers. zu Periode II (Mehlfütterung).

52. 6. VIII. 09: 8h 5—8h 30 = 25 Min., Fr 19, K 256 kg, Rt 38,7° C, Ba 765,09 mm, Gt 20,17° C, Wd 17,58 mm, P 747,51 mm, V 22,78 l, Vr 20,86 l, Ex sp. 3,74 % CO_2, O-Def 4,58 %, RQ 0,82, pro Min. 780,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 955,5 ccm, pro kg und Min. 3,048 ccm CO_2, O 3,732 ccm, Cal. 18,0; seit 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 1 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

53. 6. VIII. 09: 10h 11—10h 34 = 23 Min., Fr 20, K 256 kg, Rt 38,7° C, Ba 764,73 mm, Gt 21,09° C, Wd 18,59 mm, P 746,14 mm, V 24,86 l, Vr 22,65 l, Ex sp. 3,70 % CO_2, O-Def 4,62 %, RQ 0,80, pro Min. 838,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 1047 ccm, pro kg und Min. 3,274 ccm CO_2, O 4,088 ccm, Cal. 19,6; hat vorher verzehrt: 1 kg Heu (gehäckselt); steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 2 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

54. 6. VIII. 09: 12h 5—12h 24 = 19 Min., Fr 20, K 256 kg, Rt 38,7° C, Ba 763,94 mm, Gt 22,79° C, Wd 20,62 mm, P 743,32 mm, V 28,47 l, Vr 25,70 l, Ex sp. 3,76 % CO_2, O-Def 4,15 %, RQ 0,91, pro Min. 966,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 1066 ccm, pro kg und Min. 3,774 ccm CO_2, O 4,166 ccm, Cal. 20,6; vorher verzehrt: 1 kg Heu (gehäckselt); 0,5 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 3 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

55. 6. VIII. 09: 2h 11—2h 32 = 21 Min., Fr 23, K 256 kg, Rt 38,7° C, Ba 763,31 mm, Gt 22,81° C, Wd 20,65 mm, P 742,66 mm, V 25,05 l, Vr 22,59 l, Ex sp. 3,95 % CO_2, O-Def 4,81 %, RQ 0,82, pro Min. 892,2 ccm CO_2, O-Verbrauch 1086 ccm, pro kg und Min. 3,485 ccm CO_2, O 4,244 ccm, Cal. 20,5; vorher verzehrt: 1 kg Heu (gehäckselt); steht 3 Min., liegt 18 Min., kaut die letzten 10 Min. wieder; sonst absolute Ruhe.

Vers. 4 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

56. 6. VIII. 09: 4h 12—4h 32 = 20 Min., Fr 20, K 256 kg, Rt 38,7° C, Ba 762,66 mm, Gt 22,32° C, Wd 20,05 mm, P 742,61 mm, V 26,26 l, Vr 23,72 l, Ex sp. 3,92 % CO_2, O-Def 5,17 %, RQ 0,76, pro Min. 929,7 ccm CO_2, O-Verbrauch 1226 ccm, pro kg und Min. 3,632 ccm CO_2, O 4,790 ccm, Cal. 22,7; vorher nichts verzehrt; steht und kaut wieder während des ganzen Versuchs; absolute Ruhe.

Vers. 5 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

57. 6. VIII. 09: 6h 13—6h 33 = 20 Min., Fr 25, K 256 kg, Rt 38,7° C, Ba 762,12 mm, Gt 22,21° C, Wd 19,91 mm, P 742,21 mm, V 27,50 l. Vr 24,23 l, Ex sp. 4,19 % CO_2, O-Def 4,83 %, RQ 0,87, pro Min. 1040 ccm CO_2, O-Verbrauch 1199 ccm, pro kg und Min. 4,064 ccm CO_2, O 4,685 ccm,

Cal. 22,9; vorher verzehrt: 1 kg Heu (gehäckselt), 0,5 kg Schrot; liegt während des ganzen Versuchs; kaut 17 Min. wieder; absolute Ruhe.

Vers. 6 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

58. 9. VIII. 09: 8h 16—8h 33 = 17 Min., Fr 27, K 259,4 kg, Rt 38,3° C, Ba 758,67 mm, Gt 24,06° C, Wd 22,25 mm, P 736,42 mm, V 32,86 l, Vr 29,26 l, Ex sp. 3,46 % CO_2, O-Def 4,14 %, RQ 0,84, pro Min. 1012 ccm CO_2, O-Verbrauch 1211 ccm, pro kg und Min. 3,903 ccm CO_2, O 4,669 ccm, Cal. 22,6; vorher verzehrt: 1 kg Heu (gehäckselt); steht während des ganzen Versuchs; leichte Bewegung.

Vers. 7 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

59. 9. VIII. 09: 10h 15—10h 34 = 19 Min., Fr 26, K 259,4 kg, Rt 38,3° C, Ba 758,68 mm, Gt 24,31° C, Wd 22,59 mm, P 736,09 mm, V 30,11 l, Vr 26,77 l, Ex sp. 3,71 % CO_2, O-Def 4,85 %, RQ 0,77, pro Min. 993,3 ccm CO_2, O-Verbrauch 1299 ccm, pro kg und Min. 3,829 ccm CO_2, O 5,006 ccm, Cal. 23,8; nichts verzehrt; steht und kaut wieder während des ganzen Versuchs; absolute Ruhe.

Vers. 8 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

60. 9. VIII. 09: 12h 12—12h 30 = 18 Min., Fr 25, K 259,4 kg, Rt 38,3° C, Ba 758,29 mm, Gt 24,43° C, Wd 22,74 mm, P 735,55 mm, V 29,39 l, Vr 26,10 l, Ex sp. 3,85 % CO_2, O-Def 4,89 %, RQ 0,79, pro Min. 1007 ccm CO_2, O-Verbrauch 1277 ccm, pro kg und Min. 3,874 ccm CO_2, O 4,809 ccm, Cal. 23,0; nichts verzehrt; steht und kaut wieder während des ganzen Versuchs; absolute Ruhe.

Vers. 9 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

61. 10. VIII. 09: 2h 9—2h 28 = 19 Min., Fr 23, K 261,2 kg, Rt 38,4 ° C Ba 757,90 mm, Gt 23,55° C, Wd 21,58 mm, P 736,32 mm, V 28,14 l, Vr 25,09 l, Ex sp. 3,84 % CO_2, O-Def 5,03 %, RQ 0,76, pro Min. 963,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 1262 ccm, pro kg und Min. 3,689 ccm CO_2, O 4,832 ccm, Cal. 22,9; nichts verzehrt; liegt 4 Min., steht 15 Min.; kaut 16 Min. wieder; sonst absolute Ruhe.

Vers. 10 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

62. 10. VIII. 09: 4h 7—4h 32 = 25 Min., Fr 21, K 261,2 kg, Rt 38,4° C, Ba 757,84 mm, Gt 22,64° C, Wd 20,43 mm, P 737,41 mm, V 22,26 l, Vr 19,94 l, Ex sp. 4,18 % CO_2, O-Def 5,12 %, RQ 0,82, pro Min. 833,6 ccm CO_2, O-Verbrauch 1021 ccm, pro kg und Min. 3,191 ccm CO_2, O 3,911 ccm, Cal. 18,9; nichts verzehrt; liegt 21 Min., steht 4 Min.; kaut 8 Min. wieder; sonst absolute Ruhe.

Vers. 11 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

63. 10. VIII. 09: 6h 17—6h 37 = 20 Min., Fr 24, K 261,2 kg, Rt 38,4° C, Ba 758,08 mm, Gt 23,22° C, Wd 21,16 mm, P 736,92 mm, V 27,98 l, Vr 25,00 l, Ex sp. 3,86 % CO_2, O-Def 4,72 %, RQ 0,82, pro Min. 965,0 ccm CO_2, O-Verbrauch 1180 ccm, pro kg und Min. 3,695 ccm CO_2, O 4,518 ccm, Cal. 21,8; nichts verzehrt, 12 Stunden ungefüttert; steht während des ganzen Versuchs; kaut 13 Min. wieder; ziemliche Ruhe.

Vers. 12 im 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

64. 14. IX. 09: 9h 49—10h 4 = 15 Min., Fr 23, K 285,2 kg, Rt 38,6° C, Ba 758,58 mm, Gt 20,15° C, Wd 17,57 mm, P 741,01 mm, V 35,29 l,

Vr 32,04 l, Ex sp. 4,46 % CO_2, O-Def 5,43 %, RQ 0,82, pro Min. 1429 ccm CO_2, O-Verbrauch 1780 ccm, pro kg und Min. 5,010 ccm CO_2, O 6,100 ccm, Cal. 29,4; Versuch während des Fressens; frißt innerhalb des Versuchs 1,6 kg Heu (gehäcks.); steht während des ganzen Versuchs; sonst gute Ruhe.

65. 21. IX. 09: 8^h 9—8^h 27 = 18 Min., Fr 21, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 758,22 mm, Gt 18,78° C, Wd 16,14 mm, P 742,08 mm, V 28,28 l, Vr 25,83 l, Ex sp. 3,81 % CO_2, O-Def 4,86 %, RQ 0,78, pro Min. 984 ccm CO_2, O-Verbrauch 1256 ccm, pro kg und Min. 3,312 ccm CO_2, O 4,224 ccm, Cal. 20,1; seit 12 Stunden nicht gefüttert; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 1 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

66. 21. IX. 09: 10^h 8—10^h 24 = 16 Min., Fr 25, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 758,50 mm, Gt 20,09° C, Wd 17,50 mm, P 741,00 mm, V 34,51 l, Vr 31,33 l, Ex sp. 378 % CO_2, O-Def 4,67 %, RQ 0,81, pro Min. 1184 ccm CO_2, O-Verbrauch 1463 ccm, pro kg und Min. 3,985 ccm CO_2, O 4,923 ccm, Cal. 23,7; vorher verzehrt: 1,2 kg Heu (gehäckselt), 0,2 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; kaut 8 Min. wieder; merkliche Unruhe.

Vers. 2 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

67. 21. IX. 09: 12^h 11—12^h 26 = 15 Min., Fr 29, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 758,43 mm, Gt 20,15° C, Wd 17,57 mm, P 740,86 mm, V 38,42 l, Vr 34,88 l, Ex sp. 3,77 % CO_2, O-Def 4,49 %, RQ 0,84, pro Min. 1315 ccm CO_2, O-Verbrauch 1566 ccm, pro kg und Min. 4,424 ccm CO_2, O 5,269 ccm, Cal. 25,5; vorher verzehrt: 1,2 kg Heu (gehäckselt), 0,2 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; kaut durchgehends wieder; etwas Bewegung.

Vers. 3 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

68. 21. IX. 09: 2^h 14—2^h 27 = 13 Min., Fr 31, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 758,61 mm, Gt 20,89° C, Wd 18,38 mm, P 740,23 mm, V 39,52 l, Vr 35,75 l, Ex sp. 3,63 % CO_2, O-Def 4,43 %, RQ 0,82, pro Min. 1298 ccm CO_2, O-Verbrauch 1584 ccm, pro kg und Min. 4,367 ccm CO_2, O 5,329 ccm, Cal. 25,7; vorher verzehrt: 1,2 kg Heu (gehäckselt), 0,2 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; kaut 10 Min. wieder; gute Ruhe.

Vers. 4 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

69. 21. IX. 09: 4^h 12—4^h 27 = 15 Min., Fr 29, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 758,88 mm, Gt 20,53° C, Wd 17,97 mm, P 740,91 mm, V 37,79 l, Vr 34,26 l, Ex sp. 3,45 % CO_2, O-Def 4,41 %, RQ 0,78, pro Min. 1182 ccm CO_2, O-Verbrauch 1511 ccm, pro kg und Min. 3,977 ccm CO_2, O 5,084 ccm, Cal. 24,3; vorher nichts verzehrt; steht während des ganzen Versuchs; kaut 13 Min. wieder; gute Ruhe.

Vers. 5 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

70. 21. IX. 09: 6^h 12—6^h 26 = 14 Min., Fr 33, K 297,2 kg, Rt 38,3° C, Ba 759,58 mm, Gt 21,53° C, Wd 19,11 mm, P 740,47 mm, V 40,12 l, Vr 36,22 l, Ex sp. 3,28 % CO_2, O-Def 3,96 %, RQ 0,87, pro Min. 1188 ccm CO_2, O-Verbrauch 1370 ccm, pro kg und Min. 3,997 ccm CO_2, O 4,609 ccm, Cal. 22,5; vorher verzehrt: 1,2 kg Heu (gehäckselt), 0,2 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; kaut 4 Min. wieder; ziemliche Ruhe.

Vers. 6 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

71. 21. IX. 09: 8^h 17—8^h 30 = 13 Min., Fr 30, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 760,05 mm, Gt 21,51° C, Wd 19,08 mm, P 740,97 mm, V 40,55 l, Vr 36,64 l, Ex sp. 4,10% CO_2*), O-Def 3,77%, RQ 1,08*), pro Min. 1502 ccm CO_2, O-Verbrauch 1381 ccm, pro kg und Min. 5,055 ccm CO_2, O 4,648 ccm; vorher verzehrt: 1,2 kg Heu (gehäckselt), 0,2 kg Schrot; steht während des ganzen Versuchs; gute Ruhe.

Vers. 7 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

*) Der abnorm hohe resp. Quot. 1,08 resultiert aus dem zu hohen CO_2-Wert resp. aus dem zu niedrigen O_2-Wert. Demselben muß ein Fehler in der Analyse zugrunde liegen, der jedoch bis jetzt nicht ermittelt werden konnte. Der Versuch wurde zu weiteren Verrechnungen nicht verwendet.

72. 21. IX. 09: 10^h 18—10^h 32 = 14 Min., Fr 33, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 760,39 mm, Gt 20,68° C, Wd 18,13 mm, P 742,26 mm, V 39,84 l, Vr 34,54 l, Ex sp. 3,17% CO_2, O-Def 4,03%, RQ 0,79, pro Min. 1095 ccm CO_2, O-Verbrauch 1392 ccm, pro kg und Min. 3,682 ccm CO_2, O 4,684 ccm, Cal. 22,4; nichts verzehrt; steht während des ganzen Versuchs; kaut 6 Min. wieder; ziemliche Ruhe.

Vers. 8 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

73. 21. IX. 09: 12^h 8—12^h 25 = 17 Min., Fr 28, K 297,2 kg, Rt 38,2° C, Ba 760,79 mm, Gt 20,50° C, Wd 17,95 mm, P 742,84 mm, V 35,14 l, Vr 31,94 l, Ex sp. 3,60% CO_2, O-Def 4,38%, RQ 0,82, pro Min. 1150 ccm CO_2, O-Verbrauch 1399 ccm, pro kg und Min. 3,869 ccm CO_2, O 4,708 ccm, Cal. 22,7; nichts verzehrt; steht während des ganzen Versuchs; kaut 9 Min. wieder; gute Ruhe.

Vers. 9 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

74. 22. IX. 09: 2^h 5—2^h 21 = 16 Min., Fr 29, K 299,4 kg, Rt 38,5° C, Ba 760,99 mm, Gt 20,54° C, Wd 17,99 mm, P 743,00 mm, V 35,27 l Vr 32,06 l, Ex sp. 3,66% CO_2, O-Def 4,60%, RQ 0,80, pro Min. 1174 ccm CO_2, O-Verbrauch 1475 ccm, pro kg und Min. 3,921 ccm CO_2, O 4,926 ccm, Cal. 23,6; nichts verzehrt; steht während des ganzen Versuchs; kaut permanent wieder; gute Ruhe.

Vers. 10 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

75. 22. IX. 09: 4^h 19—4^h 34 = 15 Min., Fr 28, K 299,4 kg, Rt 38,5° C, Ba 761,17 mm, Gt 21,46° C, Wd 19,02 mm, P 742,15 mm, V 35,79 l, Vr 32,40 l, Ex sp. 3,65% CO_2, O-Def 4,52%, RQ 0,81, pro Min. 1182 ccm CO_2, O-Verbrauch 1464 ccm, pro kg und Min. 3,950 ccm CO_2, O 4,891 ccm, Cal. 23,5; nichts verzehrt; steht während des ganzen Versuchs; kaut 1 Min. wieder; sonst gute Ruhe.

Vers. 11 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

76. 22. IX. 09: 6^h 4—6^h 21 = 17 Min., Fr 27, K 299,4 kg, Rt 38,5° C, Ba 761,75 mm, Gt 20,07° C, Wd 17,47 mm, P 744,28 mm, V 32,44 l, Vr 29,59 l, Ex sp. 3,96% CO_2, O-Def 4,69%, RQ 0,84, pro Min. 1172 ccm CO_2, O-Verbrauch 1388 ccm, pro kg und Min. 3,914 ccm CO_2, O 4,635 ccm, Cal. 22,5; nichts verzehrt; steht während des ganzen Versuchs; kaut 1 Min. wieder; absolute Ruhe.

Vers. 12 im zweiten 24-Stundenvers. zu Periode I (Rauhfütterung).

Das Ergebnis der beiden Reihen des Stoffwechselversuchs läßt sich in folgender Weise zusammenfassen. In der ersten Periode mit 5 kg Heu und 1 kg Schrot wurden von 66,4 g N des Heus und 12,11 g N des Schrotes, im ganzen 78,51 g = 34,98 g im Kot ausgeschieden, also 43,53 g verdaut. Im Harn erschienen durchschnittlich 24,73 g N, mit den Epidermisschuppen gingen 0,315 g N verloren, so daß 18,48 g täglich angesetzt wurden bei einem mittleren Lebendgewicht von 252 kg.

In der zweiten Periode mit 1,5 kg Heu und 2,5 kg Schrot erschienen von 19,92 g des Heues und 30,28 g des Schrotes, im ganzen 50,20 g N = 21,74 g im Kote wieder. Es sind also 28,46 g verdaut worden. Durch den Harn wurden 20,87 g N ausgeschieden, für die Epidermoidalgebilde kamen 0,195 g in Abrechnung. Der Ansatz war also wesentlich kleiner als in Periode I; er betrug 7,4 g pro Tag.

Die genaue Analyse des Futters und des Kotes in bezug auf sämtliche in ihnen enthaltenen Nährbestandteile soll in späterer Zeit ausgeführt werden. Auf Grund von Standardzahlen läßt sich einstweilen folgender Überblick gewinnen:

In der I. Periode wurden verdaut pro Tag:

$43{,}53 \times 6{,}25 = 272{,}1$ g Rohprotein,
39 g Fett,
1695 g N-freie Extraktstoffe,
782 g Rohfaser.

Die im Futter aufgenommene Rohfaser betrug 1580 g.

In der II. Periode wurden verdaut pro die

$28{,}46 \times 6{,}25 = 177{,}9$ g Rohprotein,
31,5 g Fett,
2014 g N-freie Extraktstoffe,
250 g Rohfaser.

Die aufgenommene Nahrung enthielt 494 g Rohfaser.

Wie schon eingangs erwähnt, wurde nun für jede dieser Ernährungsreihen täglich morgens nüchtern, sofern man bei einem normaliter gefütterten Rinde überhaupt von Nüchternheit reden kann, ein Respirationsversuch angestellt. Die Wärmeproduktion in der üblichen Weise[1]) aus O-Verbrauch und respiratorischen Quotienten ausgerechnet betrug im Mittel

[1]) Vgl. Zuntz und Schumburg, Physiologie des Marsches, S. 260 und 361.

von 10 Versuchen für die erste Reihe = 21,1 cal. pro Kilogramm Tier und Minute; in der zweiten Reihe = 17,4 cal. Die Extreme sind im ersten Falle 20,6 und 21,7 cal. = 1,1 cal. größte Differenz; im zweiten Falle 16,5 und 19,5 cal. Dieser letztere hohe Wert war durch Wiederkauen während 20 des 24 Minuten dauernden Versuches bedingt. Zwei weitere Versuche mit 18,8 und 18,7 cal. sind durch Unruhe, die bei letzterem durch Fliegenbelästigung hervorgerufen wurde, kompliziert. Diese drei Versuche sind bei Aufstellung des oben genannten Mittels (17,4 cal.) ausgeschaltet. Nach dieser Ausschaltung betragen die Extreme für die Reihe II 16,5 cal. und 18,0 cal., also eine Differenz von nur 1,5 cal.

Fig. 1.

Kurve des Calorienverbrauchs pro 1 kg Tier und Minute aus den „Nüchtern“-Versuchen während der Stoffwechselperioden.

——— I. Periode. - - - - - II. Periode.

Tagesration:	Durchschnittl. Körpergewicht:
Periode I = 5,0 kg Heu, 1,0 kg Schrot.	Periode I = 242,9 kg.
„ II = 1,5 kg „ 2,5 kg „	„ II = 248,6 kg.

Die Wärmeproduktion pro Kilogramm Tier und Minute bei den 10 zu jeder Periode gehörigen Morgenversuchen, die für die weiteren Versuche in jeder der zwei Versuchsreihen als Grundlage (relative Nüchternwerte) dienen, ist in vorstehender Kurve I zur Anschauung gebracht. Aus derselben ist besonders bei Erwägung der absoluten Höhe der Ordinate ohne weiteres ersichtlich, eine wie große Konstanz sich bei diesen kurze Zeit dauernden Respirationsversuchen erreichen läßt, wenn man nur auf strikte Beobachtung gleicher äußerer Ver-

suchsbedingungen bedacht ist und alle aus dem genauen Versuchsprotokoll ersichtlichen Störungen des aufgestellten Programms durch Einflüsse von außen gebührend in Rechnung zieht.

Im folgenden seien nun die Resultate aus den Respirationsversuchen mit den von Pächtner gefundenen in Vergleich gestellt nachdem sie wie dort nach den nachstehenden Gesichtspunkten geordnet wurden. Zur Aufstellung dieser Tabellen sind nur solche Versuche gewählt, bei denen laut genauen Versuchsprotokolls das gesamte Verhalten des Tieres durch keine wahrnehmbaren äußeren Reize beeinträchtigt war, sondern in jeder Weise, namentlich in bezug auf die äußere Ruhe den Versuchsbedingungen entsprach.

Tabelle I.[1]) S. 488.

Bei ruhendem Tier, längere Zeit nach der Futteraufnahme (relativer Nüchternwert).

Tabelle II. S. 489.

Bei ruhendem Tier bald nach der Futteraufnahme (Verdauungswert).

Tabelle III. S. 489.

Während der Futteraufnahme (Kauarbeit).

Tabelle IV. S. 490.

Während des Wiederkauens.

Die Steigerung der Wärmeproduktion der Tabelle Ia (Heufütterung) gegenüber Tabelle Ib (Mehlfütterung), die, wie in Kurve I ersichtlich, pro Kilogramm Tier und Minute im Mittel 3,7 cal. ausmacht, beträgt 21,3% des Wertes bei heuarmer Fütterung. Diese Zahl bedeutet demnach den Mehraufwand an Arbeit pro Kilogramm Tier und Minute bedingt durch den Mehrgehalt der Ration I an ballastreichen Substanzen (Rohfaser) gegenüber Ration II, ein Aufwand, der die mächtige, den Energieumsatz steigernde Wirkung der mechanischen Belastung des Magen-Darmtractus um so markanter beleuchtet, als derselbe noch nach 12 Stunden seit der letzten Futteraufnahme zu konstatieren war.

Bei Pächtner berechnet sich die Wärmeproduktion des ruhenden Tieres längere Zeit nach der Fütterung (relativer

[1]) Diese Tabelle ist bei mir in eine Ia (bei Heufütterung) und Ib (bei Mehlfütterung) untergeteilt.

Nüchternwert) aus O-Verbrauch und respiratorischem Quotienten auf 17,7 cal. pro Kilogramm und Minute. Da dort weder Art und Quantität der Fütterung, noch die Zeit angegeben ist, wie lange dieselbe zurückliegt, ist es schwierig zu entscheiden, mit welcher der beiden Tabellen (Ia oder Ib) diese Zahl gegenüberzustellen, resp. wohin die von Pächtner gewählte Ernährung zwischen den beiden vorliegenden Fütterungsextremen zu gruppieren ist. Pächtner standen, da seine Versuche nicht im Institut, sondern im Stalle der Tierärztlichen Hochschule ausgeführt wurden, keine präzisen Angaben über die Größe der vor jedem Respirationsversuch aufgenommenen Nahrungsmenge zur Verfügung. Sein niedriger Nüchternwert (17,7 cal.) erklärt sich einerseits daraus, daß bei der Fütterung seines Tieres ziemlich reichlich Rüben verfüttert wurden, die wohl eine geringe Verdauungsarbeit bewirken, und andererseits, daß zwischen der letzten Fütterung und dem „Nüchternversuch" eine nicht genau bestimmte, aber im allgemeinen längere Zeit verflossen war. Infolge dieses seines niedrigen Ruhewertes findet Pächtner für die angeführten Modifikationen durchgehends eine höhere Steigerung.

Da die zu den Tabellen II, III und IV verwendeten Versuche alle in eine Zeit fielen, in der das Tier sich in der Heufütterung befand, sind die sich aus den Tabellen ergebenden Mittelwerte alle auf Tabelle Ia (Heufütterung) zu beziehen.

Die Versuche in Tabelle II sind aufgenommen bei stehendem Tier, kurz nach einer größeren Futteraufnahme. Es zeigt sich in den Werten dieser Reihe eine Steigerung des Verbrauches, die im Mittel gegenüber dem Mittelwert von Reihe Ia 21,3 % beträgt. Diese Zahl steht in gutem Einklang mit dem von Pächtner für die ersten Verdauungsstunden gefundenen Mehrverbrauch von 23,7 %.

In den Versuchen der Tabelle III wurde das Tier beobachtet, während es eine gewogene Menge Futter verzehrte. Es zeigt sich hier eine Steigerung der Wärmeproduktion gegenüber dem Ruhewert um 36,5 %. Dieser Wert bleibt hinter dem von Pächtner gefundenen = 51,4 % erheblich zurück. Doch hat dort das Tier während dieser Versuche ausschließlich Heu gefressen. Wenn ich in Analogie die Versuche Nr. 5 und Nr. 7 mit gemischter Fütterung streiche, erhalte ich für die

Kauarbeit des nur Heu fressenden Tieres eine Steigerung des Calorienverbrauches pro Kilogramm und Minute von 21,1 auf 29,4, also um 39,3 %. Der auch hier noch bestehende Unterschied der beiderseitigen Resultate ist damit zu erklären, daß der durch Kauarbeit hervorgerufene Effekt in erster Linie von der wechselnden Intensität des Kauens abhängig ist, und diese wiederum, abgesehen vom momentanen psychischen Zustand des Tieres, von der mechanischen Beschaffenheit des Heues bedingt ist, als deren chemischer Maßstab sein Gehalt an Rohfaser dienen kann. Daß die Kauintensität bei ein und demselben Tier, ja sogar beim Verzehren desselben Heues, eine sehr verschiedene sein kann, beweisen die Versuche Nr. 2 und Nr. 64. Im ersteren Falle werden bei einer Versuchsdauer von 18 Minuten bloß 0,575 kg, im zweiten während nur 15 Minuten hingegen 1,6 kg Heu, also die dreifache Menge verzehrt, und in beiden Fällen ist die Wärmeproduktion pro Kilogramm und Minute die gleiche = 29,4 cal. Demnach wurde das Heu in Versuch 2 energisch und ausgiebig und mit Muße zerkleinert, im Versuch 64 jedoch wahrscheinlich wegen allzu großen Hungergefühls nur mangelhaft gekaut und hastig abgeschlungen. Schließlich sei noch erwähnt, daß meinem Tier alles Heu im gehäckselten Zustande vorgelegt wurde, während Pächtner das Heu lang verfütterte, was für das fressende Tier sicherlich eine nicht zu unterschätzende Mehrarbeit bedeutete.

Tabelle IV bringt schließlich noch Werte über den Gaswechsel des Tieres, während es wiederkaute. Pächtner konnte das Mittel aus den Wiederkauversuchen in Vergleich stellen mit dem Mittel der aus den ersten Verdauungsstunden (Tabelle II) erhaltenen Werte und fand gegenüber diesen eine Steigerung des O-Verbrauchs um 13,6 %, was, da der respiratorische Quotient um 0,07 niedriger war, einer Steigerung der Wärmeproduktion um 9 % entsprechen würde. Bei meinen Versuchen erreicht das Maß des Calorienverbrauchs beim Wiederkauen nicht das auf der Höhe der Verdauung gefundene. Das erklärt sich daraus, daß dem beobachteten Wiederkauen meist nur kleine Mahlzeiten vorangingen und in einigen Fällen (Nr. 60, 74) seit der letzten Mahlzeit bereits 5 bis 7 Stunden verflossen waren. Ich vergleiche daher das Mittel der beim

Tabelle Ia. (Nüchtern-Versuche bei Heufütterung.)

Laufende Nr.	Datum	Versuchsdauer in Min.	Atemfrequenz in Min.	Atemvolumen pro Min. in Liter: abgelesen an der Gasuhr	Atemvolumen pro Min. in Liter: reduziert 0°,760 mm Hg u. Trockenh.	Exspirationsluft enthält ccm: CO_2	Exspirationsluft enthält ccm: O	Exspirationsluft enthält ccm: N	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung ccm: pro Tier u. Min.	CO_2-Ausscheidung ccm: pro kg Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm: pro Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm: pro kg Tier u. Min.	Respirator. Quotient	Cal.-Verbrauch pro kg Tier u. Min.	Körper-Gewicht	Bemerkungen
18	24. VI.	22	21	23,35	21,02	4,14	16,02	79,84	4,11	5,08	863,7	3,637	1068	4,495	0,81	21,6	237,5	
19	25. VI.	22	21	26,25	23,52	3,91	16,51	79,58	3,88	4,52	912,5	3,831	1063	4,463	0,86	21,7	238,2	leichte Bewegung
20	26. VI.	18	20	23,85	21,46	4,09	16,21	79,70	4,06	4,86	871,4	3,661	1043	4,383	0,84	21,2	238	
21	27. VI.	18	20	28,26	25,32	3,66	16,79	79,55	3,63	4,24	919,0	3,782	1073	4,417	0,86	21,5	243	leichte Bewegung
22	28. VI.	21	18	24,26	21,95	4,03	16,25	79,72	4,00	4,82	878,0	3,628	1058	4,372	0,83	21,1	242	
23	29. VI.	20	20	25,96	23,48	3,82	16,57	79,61	3,79	4,47	890,1	3,670	1050	4,329	0,85	21,0	242,5	
24	30. VI.	21	20	27,26	24,39	3,76	16,67	79,57	3,73	4,36	909,8	3,729	1063	4,359	0,86	21,2	244	leichte Bewegung
25	1. VII.	19	20	26,73	23,90	3,62	16,66	79,72	3,59	4,41	858,1	3,502	1054	4,303	0,81	20,7	245	
26	2. VII.	22	19	25,69	23,25	3,88	16,53	79,59	3,85	4,51	895,0	3,638	1048	4,262	0,85	20,7	246	
27	3. VII.	22	19	25,04	22,95	4,05	16,37	79,58	4,02	4,66	922,6	3,655	1070	4,237	0,86	20,6	252,4	
im Mittel:		20	20	25,66	23,12	3,89	16,46	79,64	3,87	4,59	892,0	3,673	1059	4,362	0,84	21,1	242,9	

Tabelle Ib. (Nüchtern-Versuche bei Mehlfütterung.)

Laufende Nr.	Datum	Versuchsdauer in Min.	Atemfrequenz in Min.	Atemvolumen pro Min. in Liter: abgelesen an der Gasuhr	Atemvolumen pro Min. in Liter: reduziert 0°,760 mm Hg u. Trockenh.	Exspirationsluft enthält ccm: CO_2	Exspirationsluft enthält ccm: O	Exspirationsluft enthält ccm: N	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung ccm: pro Tier u. Min.	CO_2-Ausscheidung ccm: pro kg Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm: pro Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm: pro kg Tier u. Min.	Respirator. Quotient	Cal.-Verbrauch pro kg Tier u. Min.	Körper-Gewicht	Bemerkungen
30	21. VII.	30	12	18,05	16,37	4,26	15,56	80,18	4,23	5,73	692,6	2,807	938,1	3,803	0,74	18,0	246,7	leichte Bewegung
31	22. VII.	25	16	21,26	19,14	3,93	16,40	79,67	3,90	4,66	746,5	3,022	892,0	3,611	0,84	17,5	247	
33	24. VII.	24	20	20,93	19,10	3,76	16,41	79,83	3,75	4,69	712,4	2,849	895,7	3,583	0,80	17,2	250	
34	25. VII.	24	19	21,61	20,75	3,50	16,74	79,76	3,47	4,34	720,0	2,895	900,5	3,621	0,80	17,4	248,7	
36	27. VII.	26	15	21,08	18,51	4,30	16,12	79,58	4,27	4,91	790,5	3,118	909,0	3,586	0,87	17,5	253,5	
38	29. VII.	29	15	19,77	17,46	4,09	16,25	79,66	4,06	4,80	708,8	2,875	838,0	3,399	0,85	16,5	246,5	
39	30. VII.	25	15	20,34	19,11	4,19	16,30	79,51	4,16	4,72	794,8	3,211	901,8	3,644	0,88	17,8	247,5	
im Mittel:		26	16	20,43	18,63	4,00	16,35	79,74	3,97	4,84	737,9	2,968	896,4	3,607	0,83	17,4	248,5	

Tabelle II. (Versuche in der Verdauung.)

Laufende Nr.	Datum	Versuchsdauer in Min.	Atemfrequenz in Min.	Atemvolumen pro Min. in Liter abgelesen an der Gasuhr	Atemvolumen pro Min. in Liter reduziert 0°, 760 mm Hg u. Trockenh.	Exspirationsluft enthält ccm CO_2	O	N	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung ccm pro Tier u. Min.	CO_2-Ausscheidung ccm pro kg Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm pro Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm pro kg Tier u. Min.	Respirator. Quotient	Cal.-Verbrauch pro kg Tier u. Min.	Körper-Gewicht	Bemerkungen
8	3. VI.	21	20	26,04	23,24	4,24	16,20	79,60	4,14	4,83	966,3	4,382	1127	5,113	0,86	24,9	220,5	liegt 10 Min., hat verzehrt: 1,7 kg Heu
11	5. VI.	7	28	35,37	31,45	3,81	16,60	79,59	3,72	4,44	1170	5,131	1396	6,124	0,84	30,0	228	hat verzehrt: 2,25 kg Heu 1,5 kg Schrot, 1,5 kg Rüb.
16	19. VI.	8	32	35,76	32,18	3,62	17,06	79,32	3,59	3,91	1155	4,734	1258	5,156	0,92	25,5	244	hat verzehrt: 3,7 kg Heu 0,5 kg Schrot
58	9. VIII.	17	27	32,86	29,26	3,49	16,90	79,61	3,46	4,14	1012	3,903	1211	4,669	0,84	22,6	259,4	gehört zum 24-Stundenversuch, siehe dort
im Mittel:		13	27	32,56	29,06	3,79	16,69	79,53	3,73	4,33	1075,8	4,537	1248	5,265	0,87	25,6	237,5	

Tabelle III. (Versuche während des Kauens.)

Laufende Nr.	Datum	Versuchsdauer in Min.	Atemfrequenz in Min.	Atemvolumen pro Min. in Liter abgelesen an der Gasuhr	Atemvolumen pro Min. in Liter reduziert 0°, 760 mm Hg u. Trockenh.	Exspirationsluft enthält ccm CO_2	O	N	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung ccm pro Tier u. Min.	CO_2-Ausscheidung ccm pro kg Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm pro Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm pro kg Tier u. Min.	Respirator. Quotient	Cal.-Verbrauch pro kg Tier u. Min.	Körper-Gewicht	Bemerkungen
2	21. V.	18	18	27,36	25,02	4,45	15,74	79,81	4,42	5,36	1106	5,026	1341	6,097	0,82	29,4	220	frißt 0,575 kg Heu
5	22. V.	19	23	28,08	25,44	4,17	16,09	79,74	4,14	4,99	1053	4,810	1270	5,797	0,83	28,0	219	frißt 0,6 kg Heu, 0,5 kg Schrot, 0,5 kg Rüben
7	3. VI.	16	—	31,26	28,11	3,91	16,43	79,66	3,80	4,63	1067	4,839	1300	5,896	0,82	28,4	220,5	frißt 1,5 kg Schrot, 1,0 kg Rüben
64	14. IX.	15	23	35,29	32,04	4,49	15,67	79,84	4,46	5,43	1429	5,010	1780	6,100	0,82	29,4	285,2	frißt 1,6 kg Heu
im Mittel:		17	21	30,50	27,65	4,25	15,98	79,76	4,20	5,10	1164	4,921	1423	5,972	0,82	28,8	236,2	

Tabelle IV. (Versuche während des Wiederkauens.)

Laufende Nr.	Datum	Versuchsdauer in Min.	Atemfrequenz in Min.	Atemvolumen pro Min. in Liter: abgelesen an der Gasuhr	Atemvolumen pro Min. in Liter: reduziert 0°,760 mm Hg u. Trockenh.	Exspirationsluft enthält ccm: CO_2	Exspirationsluft enthält ccm: O	Exspirationsluft enthält ccm: N	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung ccm: pro Tier u. Min.	CO_2-Ausscheidung ccm: pro kg Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm: pro Tier u. Min.	O-Verbrauch ccm: pro kg Tier u. Min.	Respirator. Quotient	Cal.-Verbrauch pro kg Tier u. Min.	Körper-Gewicht	Bemerkungen
																		Kaut wieder:
28	16. VII.	18	23	28,56	25,61	3,75	16,52	79,73	3,72	4,55	952,6	4,016	1165	4,912	0,82	23,7	237,2	durchgehends
56	6. VIII.	22	20	26,26	23,72	3,95	15,99	80,06	3,92	5,17	929,7	3,632	1226	4,790	0,76	22,7	256	durchgehends
59	9. VIII.	19	26	30,11	26,77	3,74	16,29	79,97	3,71	4,85	993,3	3,829	1299	5,006	0,77	23,8	259,4	durchgehends
60	9. VIII.	18	25	29,39	26,10	3,88	16,23	79,89	3,85	4,89	1007	3,874	1277	4,809	0,79	23,0	259,4	durchgehends
67	21. IX.	15	29	38,42	34,88	3,80	16,56	79,64	3,77	4,49	1315	4,424	1566	5,269	0,84	25,5	297,2	durchgehends
69	21. IX.	15	29	37,79	34,26	3,48	16,69	79,83	3,45	4,41	1182	3,977	1511	5,084	0,78	24,3	297,2	exklus. 2 Min.
74	22. IX.	16	29	35,27	32,06	3,69	16,50	79,81	3,66	4,60	1174	3,921	1475	4,926	0,80	23,6	299,4	durchgehends
68	21. IX.	13	31	39,52	35,75	3,66	16,64	79,70	3,63	4,43	1298	4,367	1584	5,329	0,82	25,7	297,2	exklus. 3 Min.
im Mittel:		17	26	33,16	29,89	3,74	16,43	79,83	3,71	4,67	1106,5	4,005	1388	5,016	0,79	24,0	275,4	

Wiederkauen festgestellten Werte mit dem der Nüchternwerte (Tab. Ia) und finde eine Erhöhung um 13,7 %. Diese Zahl ist, weil dem Tier in diesem Stadium der Verdauung gewiß noch ein den „Nüchternwert" übersteigender Verbrauch zukam, ein Maximalwert, während die von Pächtner durch Vergleich mit dem Verbrauch auf der Höhe der Verdauung gefundene Steigerung um 9 % als Minimalwert zu betrachten ist. Beide Zahlen kommen einander nahe genug, so daß man das Mittel als annähernd richtigen Ausdruck der Wirkung des Wiederkauens auf die Oxydationsprozesse betrachten kann. Die Pächtnerschen Wiederkauversuche sind, wie gesagt, zu einer Zeit ausgeführt, wo das Tier auf der Höhe der Verdauung entweder die ganze Tagesration oder doch den größten Teil derselben bereits verzehrt hatte. Darum mußte er das Mittel der Wiederkauwerte mit

dem auf der Höhe der Verdauung festgelegten in Vergleich stellen, und seine Wiederkauwerte stellen die Summe beider Effekte, Verdauung und Wiederkauen, dar.

Es fehlen mir zu dem Vergleich mit den Verdauungsversuchen im genau gleichen Stadium aufgenommene Wiederkauversuche, wie sie Pächtner zur Verfügung standen, so daß seine Zahlen in dieser Hinsicht für das Wiederkauen die maßgebenderen sind. Ich möchte aber auch die Möglichkeit nicht ganz von der Hand weisen, daß die Stoffwechselsteigerung durch das Wiederkauen vermöge der verschieden starken Intensität dieses Prozesses bei verschiedenen Tieren eine verschieden starke sein könnte. Die beiden Versuche, in denen bei mir das Wiederkauen mit einem Versuch ohne Wiederkauen bei einigermaßen gleichem Verdauungsstadium verglichen werden kann, geben eine noch etwas größere Steigerung, als ich sie oben gefunden hatte, was im Sinne der letztgegebenen Erklärung spricht. Es handelt sich hier um Versuch 50, verglichen mit Versuch 48 der 24-Stunden-Reihe bei heuarmer Fütterung. In beiden Versuchen lag das Tier in absoluter Ruhe, war aber während Versuch 50 ständig mit Wiederkauen beschäftigt. Die Versuche sind direkt miteinander vergleichbar, weil, wie Kurve 2 S. 495 zeigt, von 12 Uhr nachts bis 8 Uhr morgens der Stoffwechsel des Tieres unverändert bleibt. Es betrug nun die Wärmeproduktion in Versuch 50 19,3 cal., in Versuch 48 16,7 cal., das Wiederkauen hat also den Verbrauch um 2,6 cal. = 15,6% gesteigert. Ebenso ist der Wiederkauversuch Nr. 35 mit dem Mittel der anderen zur gleichen Tagesstunde und bei gleicher Fütterung ausgeführten Versuche zu vergleichen. Dieses Mittel beträgt 17,4 cal. Versuch 35 zeigt 19,5 Calorienverbrauch, also eine Steigerung durch das Wiederkauen um 2,1 cal. Da das Tier von den 24 Minuten des Versuchs während 4 Minuten nicht wiederkaute, ist der Wert um $^1/_6$ = 0,35 cal. zu erhöhen auf 2,45 cal. Die Steigerung beträgt hier also 14,1% des Mittelwertes der Reihe (17,4 cal.). Diese beiden Resultate bestätigen das Maß der Steigerung durch Wiederkauen, das ich oben berechnet habe.

Aus vorgenannten Tabellenwerten sowie aus manchen den Anforderungen entsprechenden Einzelversuchen wurde nun die Kauarbeit pro 1 kg Heu und die Arbeit des zugehörigen Wieder-

kauens ermittelt, und ich stelle die Summe dieser beiden Faktoren als die Gesamtkauarbeit des Rindes gegenüber dem von Zuntz, Lehmann, Hagemann gefundenen entsprechenden Werte für die Kauarbeit allein beim Pferde. Um den Unterschied zwischen Rind und Pferd im Verbrauch einwandfrei zu markieren, sind beim Rinde die für das Kauen und Wiederkauen gefundenen Maximalwerte (52,3 Cal. und 41,9 Cal.) angeführt. Als Beispiel der Berechnung diene das Ergebnis von Versuch 2. Das Tier brauchte pro Kilogramm und Minute 29,4 cal., vorher nüchtern 21,8 cal., das Fressen bedingte also eine Steigerung um 7,6 cal. pro Kilogramm und Minute. Dies multipliziert mit dem Gewicht 220 kg und der Versuchsdauer 18 Minuten gibt uns eine Mehrproduktion von 30,1 Cal. durch das Fressen von 0,575 kg Heu. Das macht pro 1 kg Heu 52,34 Cal. In Versuch Nr. 64 hat das Tier 2 Stunden länger als gewöhnlich auf sein Morgenfutter warten müssen und fraß dasselbe daher ungewöhnlich gierig und hastig. Hier betrug der Verbrauch 29,4 cal. gegen 20,1 cal. im Durchschnitt für diese Zeit. Die Steigerung von 9,3 cal. pro Kilogramm und Minute ergibt, mit dem Gewicht 285,2 kg und der Versuchsdauer 15 Minuten multipliziert, 39,79 Cal. für 1,6 kg Heu, also 24,77 Cal. für das Kauen von 1 kg Heu. Man sieht, wie sehr die Werte je nach der Freßgier des Tieres wechseln. Die Arbeit des Wiederkauens können wir wie folgt annähernd berechnen. Wir fanden die Stoffwechselsteigerung durch das Wiederkauen = 2,9 cal. pro Kilogramm und Minute, was bei einem Durchschnittsgewicht von 243 kg und einem durchschnittlichen täglichen Aufwand von 357 Minuten (vgl. S. 496) für das Wiederkauen von 5 kg Heu + 1 kg Mehl = 6 kg Futter einem Gesamtaufwand von 41,9 Cal. für 1 kg gleichkommt.

Wie aus der Zusammenstellung auf S. 496 hervorgeht, braucht unser Rind für das Wiederkauen von 1 kg Mehl eher mehr Zeit als für 1 kg Heu.

Wenn wir die Zeit, die auf das Wiederkauen von 1 kg Mehl verwendet wird, mit y, die für 1 kg Heu mit x bezeichnen, ergeben sich aus den S. 496 mitgeteilten Beobachtungen folgende 2 Gleichungen:

$$\text{I.}\ 5x + y = 357,$$
$$\text{II.}\ 1{,}5x + 2{,}5y = 273.$$

Hieraus $x = 56{,}3$ Min. für das Wiederkauen von 1 kg Heu,
$y = 75{,}4$ „ „ „ „ „ 1 „ Mehl.

Das Rind verbraucht demnach

für das Kauen von 1 kg Heu . . 52,3 Cal., (in maximo),
„ „ Wiederkauen von 1 kg Heu 41,9 „
„ die totale Kauarbeit pro 1 kg Heu 94,2 „

Nach den Pächtnerschen Zahlen lautet die entsprechende Rechnung

für das Kauen von 1 kg Heu . . . 66,2 Cal.,
„ „ Wiederkauen von 1 kg Heu . . 45,5 „
„ die totale Kauarbeit pro 1 kg Heu 111,7 „

Der Unterschied zwischen Pächtners und meinem Resultat mag sich wohl aus der Individualität der beiden Versuchstiere erklären. Beim Pferde fanden die eben genannten Autoren für die Kauarbeit allein einen Verbrauch von 167 Cal. pro 1 kg Heu. Das Pferd bedarf demnach über $^1/_3$ mehr Energie für das Kauen allein, als das Rind für Kauen und Wiederkauen zusammengenommen. Hieraus ist einmal ersichtlich, eine wie gründliche Mahlarbeit das Kauen des Pferdes sein muß, des anderen, mit welcher Ökonomie das Rind den gleichen Effekt erreicht. Diese Kraftersparnis darf man füglich der Macerationstätigkeit der Vormägen zuschreiben. Es ist also das Rind wegen des anatomischen Baues seines Verdauungsapparates a priori der geeignetste und vorteilhafteste Verwerter der Rohfaser und gerade in dieser Hinsicht dem Pferde bei weitem überlegen.

Wie schon oben erwähnt, wurden nun noch nach Beendigung der Stoffwechselversuche jeder Versuchsreihe, aber bei unveränderter Fütterung des Tieres 24 Stunden Respirationsversuche angestellt, und zwar alle 2 Stunden ein Versuch, gleichgültig, ob das Tier stand, lag oder wiederkaute. Das Mittel dieser Versuche bedeutet wohl für die Beurteilung des Gesamtstoffwechsels des Tieres dasselbe, wie die Ergebnisse eines im Pettenkoferschen Apparate ausgeführten Versuches mit dem Unterschiede, daß in unserem Falle auch die O-Aufnahme direkt bestimmt ist, und daß ferner aus dem genauen Protokoll des Verhaltens des Tieres in jedem Versuche der Einfluß der einzelnen Lebensäußerungen deutlich nachzuweisen ist. Um den Effekt dieser Momente ihrer Größe nach noch genauer zu schätzen, waren besondere Versuche angestellt worden, teils während des Fressens, teils während des Wiederkauens,

teils unmittelbar hintereinander während das Tier stand oder lag. Aus diesen Versuchen, die zum Teil zu den für die gegenannten Modifikationen aufgestellten Tabellen Verwendung fanden, ergab sich eine Steigerung des Energieverbrauches pro Kilogramm und Minute für das Kauen um 7,7 cal., für das Wiederkauen um 2,6 cal.; dies ist der Mittelwert. Wir haben oben beim Vergleich mit der Kauarbeit des Pferdes den gefundenen Maximalwert = 2,9 cal. eingesetzt. Für das Stehen gegenüber ruhigem Liegen beträgt der Mehrverbrauch 1,85 cal. = 8%.

Diese Zahl ist auffallend kleiner, als sie Armsby bei seinen Versuchen im Respirations-Calorimeter für den Unterschied zwischen Stehen und Liegen beim Rinde gefunden hatte. Bei ihm war die Wärmeabgabe während des Stehens um durchschnittlich 30% höher als während des Liegens. Für die CO_2-Ausscheidung konnte er die Perioden nicht in entsprechender Weise abgrenzen. Nun ist es aber klar, daß die Wärmeabgabe eines Tieres in kürzeren Zeiträumen der Wärmeproduktion nicht proportional ist. Auch bei gleicher Produktion muß sie im Stehen erheblich größer sein als im Liegen, in welch letzterem Falle die strahlende Oberfläche eine wesentlich kleinere ist. Das muß sich natürlich während der ersten Zeit des Stehens resp. Liegens am stärksten geltend machen. Sieht man mit diesen Gesichtspunkten Armsbys Protokolle durch, so ergibt sich in der Tat, daß überall da, wo nur kurz dauernde Perioden des Stehens und Liegens zu vergleichen sind, der Unterschied besonders groß ist. Ferner ergibt sich in einigen Versuchen, wo eine Steh- resp. Liegeperiode infolge des Versuchsprogramms in Zeitabschnitte zerlegt wurde, daß immer im ersten Abschnitt die Liegewerte besonders niedrig, die Stehwerte besonders hoch waren. Man wird also vorläufig diese aus den kurz dauernden Respirationsversuchen abgeleiteten Werte für den Verbrauch beim Stehen und Liegen als die maßgebenden betrachten müssen.

Mit Hilfe der vorgenannten Zahlen sind nun die 24-Stundenversuche auf eine Norm reduziert, die den Verbrauch des Tieres im Stehen und ohne Wiederkauen ausdrückt und die Verteilung des durch die Verdauungsarbeit der jeweiligen Tagesration bedingten Energieumsatzes über 24 Stunden veranschaulicht. Diese Zahlen sind in beifolgender Kurve (2) dargestellt. Die durchgezogenen Linien beziehen sich auf die Heu-, die gestrichelten auf die Mehlfütterung; die dickgedruckten Linien bedeuten die reduzierten Werte, die dünngezeichneten die nicht reduzierten, welch letztere die Versuche so angeben, wie sie eben fielen, teils dem Versuchsprogramm entsprechend, meist jedoch durch Liegen oder Wiederkauen kompliziert. Wie und wie lange ein jeder Versuch durch entgegengesetztes Verhalten des Tieres

variiert war, ist aus dem genauen Protokoll der Einzelversuche, S. 471 bis 482, zu ersehen. Schließlich sei noch erwähnt, daß die Kurve der Heufütterung aus zwei Reihen von 24-Stunden-Versuchen gemittelt ist. Aus der Betrachtung dieser Kurven ergibt sich, daß der größte Unterschied der beiden Perioden während

Fig. 2.

Kurve des Calorienverbrauchs pro 1 kg Tier und Minute in den 24-Stunden-Respirationsversuchen bei Heu- (Per. I) und Mehl- (Per. II) Fütterung.

——— Periode I. - - - - Periode II.

		Mittelwerte:	
——— reduziert auf Stehen und Nichtwiederkauen	. . . .	Per. I 21,3	Per. II 20,4
- - - - nicht reduziert, Versuche so wie sie fielen	. . . .	Per. I 22,4	Per. II 19,6

Tagesration:				Durchschnittl. Körpergewicht:
Periode I = 5,0 kg	Heu,	1,0 kg	Schrot.	Periode I 278 kg.
„ II = 1,5 kg	„	2,5 kg	„	„ II 244 kg.

der Nacht besteht, während in den Stunden reger Nahrungsaufnahme der Verbrauch des mit Schrot gefütterten Tieres vorübergehend sogar den bei Heufütterung übersteigt. Zum Schluß der Tagesfütterung um 8 Uhr des Abends sind beide Linien ungefähr auf gleicher Höhe. Während die der Schrotfütterung sehr plötzlich schon bis Mitternacht fast auf den Stand des nüchternen Tieres abfällt, hält sich die der Heufütterung bis an den Morgen auf beträchtlicher Höhe. Die Kurve zeigt sehr übersichtlich den Effekt

der leicht verdaulichen und schwer verdaulichen Nahrung auf die beidemal geleistete Verdauungsarbeit; in dem einen Falle (Schrotration) während der Fütterung ein sehr schnelles Ansteigen und nach derselben ein plötzliches Abfallen, im anderen Falle (Heuration) eine allmähliche stetige Erhöhung des Energieaufwandes und auch nach der Fütterung noch ein langes Anhalten derselben durch die den langen Tractus füllende ballastreiche Nahrung. Da die dünnen Linien, welche die Versuche so anzeigen, wie sie tatsächlich gefallen sind, die die reduzierten Werte darstellenden Linien nur dann übersteigen, wenn das Tier während des Versuchs wiederkaute und nur dann unterhalb derselben verlaufen, wenn es den Versuch oder einen Teil desselben liegend zubrachte, ist ohne weiteres zu erkennen, wie oft und wie lange das Tier bei der Heufütterung während der Versuche wiederkaute und wie lange Zeit es im Falle der Mehlfütterung während der Versuche gelegen hat.

Aus diesen reduzierten Werten die Größe des 24stündigen Verbrauchs zu berechnen, wurde während der Stoffwechselversuche für jede der beiden Fütterungsreihen das vollkommen sich selbst überlassene Tier 2 mal 24 Stunden hindurch derart beobachtet, daß die durchschnittliche Zeit des Stehens, des Liegens, des Fressens und des Wiederkauens in Minuten festgestellt wurde. Das Ergebnis dieser Beobachtungen, denen ich noch einige andere biologisch wichtige Feststellungen anreihe, ist folgendes:

Verhalten des Tieres in 24 Stunden.

	Bei Heufütterung	Bei Mehlfütterung
Es steht	782 Minuten	870 Minuten
Es liegt	658 Minuten	570 „
Es frißt	(5 kg Heu) in 118 Min.	(1,5 kg Heu) in 43 Minuten
Es frißt	(1 kg Schrot) in 24 Min.	(2,5 kg Schrot) in 67 Minuten
Es frißt die Tagesration	in 142 Minuten	110 „
Es kaut wieder	357 Minuten	273 „
Die Zahl der Kotentleerung	14	9
Mittl. Tagesmenge des Kotes	12,42 kg	5,08 kg
Zahl der Harnentleerungen	11	7
Mittl. Tagesmenge des Harns	4,74 Liter	4,72 Liter
Zahl der Wasseraufnahmen	11	8
Mittl. Tagesmenge des Wassers	17,41 Liter	10,89 Liter
Mittl. Körpertemperatur (morgens nüchtern)	38,4° C	38,4° C

Es erscheint recht bemerkenswert und illustriert in vorzüglicher Weise die Feinheit der Wärmeregulation beim Rinde, daß die Körpertemperatur morgens nüchtern in beiden Versuchsreihen absolut identisch war, trotzdem die aus den Respirationsversuchen berechnete Wärmeproduktion in der Heuperiode 21,1 cal., in der Mehlperiode nur 17,4 cal. pro Kilogramm und Minute betrug. Es sei weiter noch bemerkt, daß die Einzeltemperaturen, aus denen sich die in beiden Perioden gleichen Mittelwerte von 38,4° C ergaben, in der Heuperiode zwischen 38,2 und 38,6° C schwankten, in der Mehlperiode zwischen 38,1 und 38,5°. Ein Zusammenhang der kleinen von einem Tag zum anderen beobachteten Unterschiede der Körpertemperatur mit der Temperatur des Stalles, die recht wenig schwankte und meist 19,0° C betrug, läßt sich nicht nachweisen. Man wird eher im Anschluß an das, was schon S. 494 über die verschiedene Größe der Wärmeabgabe im Stehen und Liegen gesagt wurde, daran denken müssen, daß das Verhalten des Tieres in dieser Hinsicht die kleinen Schwankungen der Körpertemperatur verursachte. Aus den oben gegebenen Daten über das Verhalten des Tieres konnte der wirkliche 24 stündige Verbrauch desselben mit Hilfe der von mir ermittelten Werte des Gaswechsels berechnet werden. Diese Rechnung gibt uns die Möglichkeit, den Tageszuwachs aus dem Vergleich der resorbierten Mengen von Nährstoffen und des faktischen Energieverbrauchs, ermittelt durch 24 stündigen Respirationsversuch zahlenmäßig zu veranschlagen. Der Effekt der geringen Bewegungen, die das behagliche und durch Fliegen nicht beunruhigte Tier im Stalle ausführte, ist im Mittel der 24-Stunden-Werte natürlich schon enthalten, dagegen ist der Verbrauch für Kauarbeit auf Grund der Mittelwerte S. 492 noch zuzurechnen.

Es ergab sich so für die Heuperiode aus den Respirationsversuchen Nr. 52 bis 63 (bei einem mittleren Lebendgewicht von 258,1 kg) ein faktischer 24 stündiger Umsatz von $1440 \times 258{,}1 \times 21{,}44$ cal. $= 7968$ Cal., wozu noch $6 \times 52{,}3 = 314$ Cal. für Kauarbeit kommen, im ganzen also 8282 Cal. Für die Schrotperiode (durchschnittliches Lebendgewicht 244 kg) betrug der mittlere Umsatz $1440 \times 244 \times 19{,}6$ cal. $= 6887$ Cal., und der Anteil der Kauarbeit höchstens $4 \times 52{,}3 = 209$ Cal., daher Gesamtverbrauch $= 7096$ Cal.

Aus der Verdaulichkeit des Futters (vgl. S. 483) kann die Menge des resorbierten Materials im Heuversuch wie folgt berechnet werden:

N-Ausscheidung im Harn 24,73 g à 12,4 Cal.[1] =	307 Cal.
39 g Fett à 9,5 Cal. . . . . =	370 „
2477 g N-fr. Extr. + Rohfaser à 3,6 Cal. . . . =	8917 „
Im ganzen	9594 Cal.
Hiervon ab der faktische Verbrauch . . . . =	8282 „
Es bleiben für Ansatz von Fett . . . . . . =	1312 Cal.

Das würde einem täglichen Ansatz von $\frac{1312}{9,5} = 138$ g Fett entsprechen. Die angesetzten 18,48 g N entsprechen (1 N = 30 g Fleisch) 554 g Fleisch, so daß eine tägliche Gewichtszunahme von 692 g zu erwarten war. Die wirkliche Gewichtszunahme betrug im Durchschnitt der Periode 720 g pro Tag (Anfangsgewicht 245 kg, Gewicht am Ende der Versuchsreihe 252,2 kg).

In der Schrotperiode lautet die entsprechende Rechnung:

N-Ausscheidung im Harn 20,87 g à 12,4 Cal. =	259 Cal.
31,5 g Fett à 9,5 Cal. . . . . =	299 „
2264 g N-fr. Extr. + verdaute Rohfaser . . . =	8150 „
Im ganzen	8708 Cal.
Der Verbrauch betrug . . . . =	7096 „
Es bleiben also für Fettansatz . . . . =	1612 „

entsprechend 170 g angesetzten Fettes.

Den angesetzten 7,4 g N entsprechen 222 g Fleisch, so daß wir im ganzen eine tägliche Zunahme um 392 g zu erwarten haben. Faktisch betrug die Zunahme 400 g pro Tag (Anfangsgewicht 243,5 kg, Gewicht nach Beendigung des Versuchs 247,5 kg). In beiden Fällen steht die Gewichtszunahme des Tieres mit dem Ergebnis der Berechnung aus der Nahrung in befriedigender Übereinstimmung.

Wir können nun noch in ähnlicher Weise, wie dies bei den Versuchen im Pettenkoferschen Respirationsapparate üblich ist, den durch Addition der Einzelversuche berechneten Gaswechsel pro 24 Stunden als Basis einer Berechnung des

[1]) Es ist hier der ganze Brennwert des Harns, wie er bei solchem Futter beim Rinde zu sein pflegt, von dem des Eiweiß abgezogen, später soll der faktische Brennwert von Futter, Kot und Harn bestimmt werden.

Energieverbrauchs bei den beiden Kostarten benutzen, um so Aufschluß über die Größe der Verdauungsarbeit zu erhalten. Diese Berechnung wird später von Herrn Geheimrat Zuntz mit Versuchen, die augenblicklich in der großen Respirationskammer des Instituts am selben Tier ausgeführt werden, in Vergleich gestellt werden. — Wir nähern uns für unsere jetzige Betrachtung den Verhältnissen in der Respirationskammer am meisten, wenn wir ohne Korrektur die in Kurve II dargestellten Respirationsversuche mitteln, so wie sie fielen und soeben zum Vergleich mit den Änderungen des Körpergewichts benutzt wurden.

Wir haben so (s. S. 497) eine Energieproduktion

von 7968 Cal. in der Heuperiode,
„ 6887 „ „ „ Schrotperiode,
1081 Cal. mehr in der Heuperiode.

An Nährstoffen wurden resorbiert:

In der Heuperiode . . .	43,53 g N	und	2516 g N-freie Stoffe,
„ „ Schrotperiode . .	28,46 g N	„	2295 g „ „
In der Heuperiode mehr	15,07 g N	und	221 g N-freie Stoffe.

Rechnen wir nun, gestützt auf die Arbeiten von Magnus-Levy (12) und Rubner (13), mit einer „Verdauungsarbeit“ resp. „spezifisch dynamischen Wirkung“ von 7,4 Cal. pro 1 g N und 0,4 Cal. pro 1 g N-freie Stoffe, was sicher ein Maximum ist, so könnte durch die Mehrzufuhr an resorbierten Nährstoffen der Verbrauch nur erhöht sein um

$15 \times 7,4 = 111$ Cal.
$+ 221 \times 0,4 = 88,4$ „
im ganzen um 199,4 Cal.,
während der Mehrverbrauch 1081,0 „ beträgt.

Es ist also ein Mehrverbrauch von 881,4 Cal. nicht erklärbar in Analogie mit der beim Hunde und beim Menschen gefundenen Wirkung einer Mehrzufuhr von verdaulichen Nährstoffen. Man wird hier in erster Linie, wie dies Zuntz und Hagemann bei den analogen Befunden am Pferde, Kellner bei denen am Rinde getan haben, an die mechanische Arbeit des Verdauungsapparates denken, wie sie durch ein an Rohfaser reiches Futter erfordert wird. Der Unterschied an Rohfasergehalt der beiden Futterrationen beträgt $1580 - 494 = 1086$ g. Es würde hiernach, wenn wir von der früher erörterten Kauarbeit absehen,

jedes Gramm Rohfaser im Futter einen Mehrverbrauch von $\frac{881,4}{1086} = 0,81$ Cal. bedingen. — Hierzu kommt noch die vergrößerte Arbeit durch Kauen und Wiederkauen. In der Heuperiode frißt das Tier täglich 142 Minuten lang. Da die Steigerung durch das Fressen 7,7 Cal. pro 1 kg und Minute beträgt, bedeutet dies beim mittleren Gewicht der Heuperiode von 258,1 kg einen Mehrverbrauch von $258,1 \times 142 \times 7,7 = 282$ Cal. In der Schrotperiode haben wir eine Freßzeit von 110 Minuten bei 244 kg Gewicht, also einen Mehrverbrauch von $244 \times 110 \times 7,7 = 207$ Cal.

Auf das Wiederkauen fallen in der Heuperiode 357, in der Schrotperiode 273 Minuten. Die Steigerung beträgt 2,9 Cal. pro Minute und daher der Gesamtaufwand für Wiederkauen:

In der Heuperiode . . . $258,1 \times 357 \times 2,9 = 267$ Cal.,
„ „ Schrotperiode . . $244 \times 273 \times 2,9 = 193$ Cal.

Der Gesamtaufwand für die Arbeit des Kauens und Wiederkauens beträgt also:

In der Heuperiode . . . . . $282 + 267 = 549$ Cal.,
„ „ Schrotperiode . . . . $207 + 193 = 400$ „

Mehraufwand in der Heuperiode = 149 Cal.

oder pro 1 g Rohfaser $= \frac{149}{1086} = 0,14$ Cal.

Beim Pferde beträgt die Kauarbeit nach Zuntz und Hagemann 0,56 Cal. pro 1 g Rohfaser und die Verdauungsarbeit 2,09 Cal. — Eigentlich ist aber, wie aus der Betrachtung der Kurve II hervorgeht, die Verdauungsarbeit des Rauhfutters beim Rinde noch niedriger, denn die auf gleiche äußere Arbeit reduzierte Kurve des Verbrauchs bei Rauhfutter überragt die des an Rohfaser armen Futters viel weniger als die unkorrigierte. — Unter Benutzung der korrigierten Kurve ergibt sich der Tagesverbrauch des stets stehend gedachten Tieres

bei Heufütterung zu . . $258,1 \times 1440 \times 21,3 = 7916$ Cal.,
„ Schrotfütterung zu . $244 \times 1440 \times 20,4 = 7168$ „

Steigerung durch das Rauhfutter = 748 Cal.

Hiervon könnten durch das Mehr an resorbierten Nährstoffen erklärt werden . . 199 „

Durch die mechanische Verdauungsarbeit bedingt 549 Cal.

oder pro 1 g Zellulose rund 0,5 Cal.

Die Berechnung der Energiemenge, die nach Rubner durch die „spezifisch dynamische Wirkung" der resorbierten Nahrung in der Heuperiode im Körper als Wärme frei werden soll, ergibt

für	43,5 g N	322 Cal.,
„	2516 g N-freie Stoffe .	1006 „
		1328 Cal.

Man wird nicht umhin können, wenigstens einen erheblichen Teil dieser Energie auf die mechanische Arbeit des Verdauungsapparats zu beziehen, nachdem wir erkannt haben, daß eine Steigerung dieser Arbeit durch die in der Nahrung der Heuperiode mehr enthaltenen 1086 g Zellulose die Wärmeproduktion um weitere 549 Cal. erhöht.

Weiterhin dürfte es von Interesse sein, den Verbrauch des Tieres auf die Oberflächeneinheit zu reduzieren. Ich entnehme in dieser Hinsicht einem Vortrag von N. Zuntz (Sitzung der Physiolog. Gesellsch. vom 10. Dezember 1909): Da uns genaue Zahlen für den Meehschen Faktor beim Rinde fehlen, ist hier mit der wohl nicht allzu sehr von der Wahrheit abweichenden Zahl 12,4 gerechnet. Man kommt dabei zu dem Resultat, daß das Tier morgens nüchtern vor der ersten Fütterung eine Energieentwicklung hatte, die auf 1 qm und 24 Stunden umgerechnet bei der Heufütterung 1410 Cal. und bei der Schrotfütterung 1148 Cal. betrug. Wir können bekanntlich die Wärmeproduktion des wirklich nüchternen, ruhenden Menschen auf etwa 700 bis 800 Cal. veranschlagen. Benedikt (11) fand in seinen Hungerversuchen für die Nachtperiode von 1 bis 7 Uhr Werte zwischen 700 und 1080 Cal. Die letzteren Werte sind wohl sicher durch etwas größere Unruhe gesteigert. Der 24stündige Umsatz des im Apparat doch immerhin eine gewisse Summe von Bewegungen ausführenden hungernden Menschen betrug 901 bis 1183 Cal. Beim Pferde berechneten Zuntz, Lehmann und Hagemann durch Abzug der Gesamtverdauungsarbeit von den direkt gemessenen 24stündigen Werten die Energieproduktion pro Quadratmeter auf 800 bis 1000 Cal. Nur in einem Falle stieg der berechnete Wert bis auf 1333 Cal. Beim Hunde ergab sich aus den Versuchen von Magnus-Levy und Hecker (12) ein Wert von

942 Cal. Wenn wir alle diese Zahlen in Betracht ziehen, wird es wahrscheinlich, daß das Rind auch bei Schrotfütterung (13 Stunden nach der letzten Futteraufnahme) noch einen um kaum weniger als 20% durch Verdauungsarbeit gesteigerten Stoffwechsel hatte, während diese Steigerung bei Heufütterung (12 Stunden von der letzten Fütterung entfernt) mehr als 50% betrug.

Zum Schlusse wird ein Vergleich der verfütterten Rationen bezüglich ihrer Verwertung und ihres oben in Zahlen ausgedrückten Nutzeffektes im Tierkörper einerseits und der momentanen Markt- und Beschaffungspreise andererseits für den praktischen Landwirt und Tierhalter wissenswerte Schlüsse gestatten. Folgender Rechnung dienen die in Berlin augenblicklich gezahlten Preise zur Grundlage.

Im ersten Falle (Heuperiode) werden 5 kg Heu und 1 kg Schrot verfüttert, entsprechend einem täglichen Geldaufwand von $5 \times 10 + 20 = 70$ Pf.; der Durchschnittsansatz pro die war auf 692 g berechnet, die mittlere tatsächliche Gewichtszunahme betrug 720 g. Im zweiten Falle (Mehlperiode) werden 1,5 kg Heu und 2,5 kg Schrot verabreicht, das ist $15 + 50 = 65$ Pf. pro Tag. Hier betrug der berechnete Ansatz 392 g, die faktische Gewichtszunahme 400 g pro die. Es ergibt sich hieraus, daß die Ration I zum Durchschnittspreis von 70 Pf. im Effekt der Ration II zum Durchschnittstagespreis von 65 Pf. um durchschnittlich (692 — 392 =) 300 g berechneten, resp. (720 — 400 =) 320 g faktischen Tageszuwachses überlegen war, d. i. 77% für die berechnete und 80% für die faktische Größe. Ich habe also bei der Heufütterung gegenüber der Mehlfütterung mit einer nur um 5 Pf. teureren Tagesration den unverhältnismäßig erheblicheren Mehransatz von 310 g (Mittel des berechneten und faktischen Zuwachses) pro die erreicht, ein Beweis mehr dafür, daß der Wiederkäuer der ökonomischste Verwerter gerade des Rauhfutters ist und daß wir meist nicht auf einen dem Geldaufwand entsprechenden Erfolg rechnen dürfen, wenn wir ihm die teuren konzentrierten Futtermittel verabreichen, welch letztere besser und mit mehr Rentabilität dem schwere Arbeit leistenden Pferde, resp. wenn es sich um Ansatz von Fleisch und Fett handelt, dem Schweine verfüttert werden.

Literatur.

1. Zuntz, Lehmann und Hagemann, Untersuchungen über den Stoffwechsel des Pferdes bei Ruhe und Arbeit. Landw. Jahrb. 18, 1889 und 27, Erg.-Bd. III, 1898.

2. Zuntz-Schumburg, Zur Kenntnis der Einwirkung des Hochgebirges auf den menschlichen Organismus. Pflügers Arch. 63, 461.

3. Heinemann, Arch. f. d. gesamte Physiologie 83, 1901.

4. Frentzel und Reach, ibid. 83, 1901.

5. Magnus-Levy, Größe des respiratorischen Gaswechsels usw. Pflügers Arch. 55, 1.

6. Zuntz, Loewy, Müller, Caspari, Bergwanderungen und Höhenklima. Berlin 1906.

7. Henneberg und Stohmann, Journ. f. Landw. — Beiträge usw. von 1858 bis 1867.

8. O. Kellner, Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Lehrbuch usw. Berlin 1906, Verlag Paul Parey.

9. Armsby und August Fries, Die nutzbare Energie des Timothyheu. Landw. Jahrb. 1909.

10. Pächtner, Respiratorische Stoffwechselforschung und ihre Bedeutung für Nutztierhaltung und Tierheilkunde. Dissertation Berlin 1909, Richard Schoetz.

11. F. G. Benedikt; The Influence of inanition on metabolism. Washington D.C. 1907.

12. Magnus-Levy, l. c.

13. Max Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. Leipzig und Wien 1902.

Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren.

Von

Ernst Welde.

(Aus dem Kaiserin-Auguste-Viktoria-Haus zur Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit im Deutschen Reiche.

(Eingegangen am 20. September 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Lösung einer großen Reihe von Fragen aus der Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels hat die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren zur Voraussetzung. Speziell in der Lehre von der Pathogenese der Ernährungsstörungen des Säuglings spielen die Beziehungen der freien flüchtigen Fettsäuren zu den Verdauungsvorgängen eine große Rolle. Um sie gründlich zu studieren, wäre eine exakte Methode zur Bestimmung der primär freien flüchtigen Fettsäuren in tierischen Flüssigkeiten unbedingte Voraussetzung. Ich habe daher auf Anregung von Prof. Langstein deren Ausarbeitung unternommen. Dabei wurde eine bisher nicht übliche Methode der Dampfdestillation im Vakuum geprüft und mit gutem Erfolge angewandt, die zweifellos nicht nur für den genannten Zweck, sondern auch bei Untersuchung aller anderen tierischen Materialien brauchbar ist.

Es soll im folgenden nur eine Darstellung und eine Rechtfertigung der Methode unter den verschiedensten Verhältnissen gegeben werden. Über die Anwendbarkeit der Methode auf physiologische Fragen wird an anderer Stelle[1]) berichtet werden.

Die bisher gebräuchlichsten Methoden der Isolierung flüchtiger Fettsäuren beruhen sämtlich auf ihrer Eigenschaft, mit

[1]) Zeitschr. f. Kinderheilk. 1, H. 2, 1910.

Wasserdämpfen bei 100° flüchtig zu sein. Entweder wurde nur eine aliquote Menge der Gesamtflüssigkeit abdestilliert, wobei naturgemäß keine absoluten, sondern nur Vergleichswerte resultierten (Verfahren von Reichert und Meißl[1]), oder es wurde das Niveau der die Säuren enthaltenden Flüssigkeit durch Auffüllen mit Wasser oder durch Einleiten von Dampf konstant gehalten und so lange destilliert, bis das Destillat nicht mehr sauer reagierte.[2])

Die letzteren Methoden führen, wie schon Schmidt-Straßburger[3]) hervorheben, bei zersetzlichen Flüssigkeiten wie Milch, Stuhlsuspensionen usw., zu keinem theoretischen Endpunkt, da durch die Zersetzung der auf 100° erhitzten und meist mit Schwefelsäure angesäuerten Flüssigkeit Fette und wohl auch Eiweiß dauernd hydrolysiert werden und dabei zum Teil in eben die Säuren zerfallen, die man doch in der Flüssigkeit als primär vorhanden nachweisen will. Außerdem ist die Milchsäure, die bekanntlich, um nur ein Beispiel herauszugreifen, sowohl in zersetzter Milch wie auch im Magen- und Darminhalt in erheblichen Mengen vorkommt, bei 100° mit Wasserdämpfen flüchtig, eine Tatsache, die bisher bei den meisten Untersuchungen ganz vernachlässigt wurde und doch bei vielen Fragen wesentlich in Betracht kommt. Diese Fehlerquellen der bisher gebräuchlichen Methoden suchte ich dadurch zu vermeiden, daß ich zunächst bei 50° bis 60° im Vakuum destillierte. Versuche mit zersetzter Milch ergaben jedoch, daß zugesetzte freie Säuren bei 2stündiger Destillation zu höchstens 7% übergingen und daß auch auf Zusatz von Phosphorsäure erst in $4^1/_2$ Stunden annähernd quantitative Resultate zu erzielen waren.

Eine Notiz von W. Steinkopf[4]) brachte mich dann auf den Gedanken, die Methode der Vakuumdestillation mit dem Einleiten von Wasserdampf zu verbinden. Die zu untersuchende

---

[1]) Reichert und Meißl, Zeitschr. f. analyt. Chem. 1886. — Meißl, Dinglers polyt. Journ. 233, 229.

[2]) H. Ury, Archiv f. Verdauungskrankheiten 11, 242, 1905. — A. Hecht, Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 57, Nr. 2, S. 63, 1910.

[3]) Schmidt-Straßburger, Die Faeces des Menschen. Berlin 1905, S. 200.

[4]) W. Steinkopf, Chem.-Zeitg. 32, 517, 1908.

Flüssigkeit wird hierbei im Vakuum bei einer Wasserbadtemperatur von 60° destilliert und zugleich Wasserdampf eingeleitet. Das Destillat wird unter Benutzung von Phenolphthalein als Indicator mit $^n/_{10}$-Natronlauge titriert und der Säuregehalt in Kubikzentimetern $^n/_{10}$-Säure ausgedrückt.

Erprobt wurde die Methode zunächst an wässerigen Lösungen der verschiedenen Säuren, dann an frischer und zersetzter Kuh- und Frauenmilch, an Milchmischungen, Mehl-, Schleim- und Malzabkochungen, an Magen- und Darminhalt und an Säuglingsstühlen.

Die Methode der — wie ich sie kurz nennen will — Vakuum-Dampf-Destillation ergab hierbei durchweg gute Resultate und hat gegenüber den eben beschriebenen älteren Verfahren folgende Hauptvorzüge:

1. In der Destillationszeit von 2 Stunden werden nahezu quantitative Ausbeuten erhalten.

2. Temperaturen, bei denen organische Flüssigkeiten wie Milch bereits erheblich bakteriell zersetzt werden, werden vermieden und so der Bildung der aus solcher Zersetzung hervorgehenden flüchtigen Produkte vorgebeugt.

3. Andere in der Flüssigkeit vorhandene Substanzen, wie Eiweiß, Fette und Kohlenhydrate, bleiben während der 2stündigen Destillationszeit unverändert.

4. Es wird eine quantitative Trennung insbesondere von der Milchsäure erreicht, die im Rückstand noch bestimmt werden kann.

5. Die Methode gestattet je nach der Art der betreffenden Untersuchung verschiedene Modifikationen.

A. Wird die zu untersuchende Flüssigkeit ohne Zusatz von Säure destilliert, so gehen naturgemäß nur die freien flüchtigen Säuren in das Destillat über, Salze und Ester bleiben im Rückstand.

Hierbei ist jedoch zu beachten, daß andere in der Flüssigkeit vorhandene, nicht flüchtige freie Säuren, auch wenn sie „schwächer“ sind als die flüchtigen Fettsäuren, diese aus ihren Salzen freimachen; so setzen z. B. Milchsäure, Bernsteinsäure und Citronensäure die äquivalenten Mengen flüchtiger Fettsäuren während der 2stündigen Destillationszeit quantitativ in Freiheit. In diesem bei den hier in Betracht kommenden Versuchen zu-

meist vorkommenden Falle A gibt also die bei der Titration des Destillates erhaltene Säurezahl an, wieviel flüchtige Fettsäuren in der ursprünglichen Flüssigkeit entweder frei vorhanden waren oder aus ihren Salzen durch andere [anorgan.[1]) oder organ.] freie Säuren in Freiheit gesetzt worden sind.

Die Feststellung dieser Säuremengen kann in vielen Fällen von Belang sein, weil meist nur Grenzwerte nötig sind, die die Maximalzahl der vorhandenen freien flüchtigen Fettsäuren angeben. Aber auch der eventuelle negative Befund — es gehen keine Säuren ins Destillat über — liefert den oft sehr wichtigen Nachweis, daß in der zu untersuchenden Flüssigkeit überhaupt keine freien Säuren vorhanden sind.

B. Wird zu der zu destillierenden Flüssigkeit eine nicht flüchtige Säure (wir wählten Phosphorsäure in geringer Konzentration) zugesetzt, so wird im Destillat die Gesamtmenge der flüchtigen Fettsäuren bestimmt, die ursprünglich entweder frei oder (als Salze) gebunden vorhanden waren. Glyceride flüchtiger Fettsäuren (z. B. Butyrin und die im Butterfett vorhandenen gemischten Glyceride) bleiben auch hierbei vollkommen ungespalten.

Die Bestimmung B kann auch noch ausgeführt werden, nachdem die Säurezahl A in derselben Flüssigkeit vorher durch 2stündige Destillation schon festgestellt wurde.

Aus den bei den Bestimmungen A und B gewonnenen Werten lassen sich leicht folgende Schlüsse ziehen:

1. Aus der Summe von A + B erhält man die Gesamtmenge der freien oder als Salz gebundenen flüchtigen Fettsäuren.[2])

2. A entspricht der Gesamtmenge vorhandener freier organischer Säuren und stellt einen Maximalwert der freien flüchtigen Fettsäuren dar.

---

[1]) Von anorganischen Säuren kommt nur freie Salzsäure in Betracht, die man vor der Destillation durch Titration mit einem spezifischen Indicator bestimmen kann.

[2]) Bei der Destillation können eventuell auch Indol, Skatol, Phenol und aromatische Oxysäuren übergehen. Bei der Titration kommen diese Produkte nicht in Betracht, weil sie in minimaler Menge vorkommen. (Schmidt und Straßburger, Die Faeces des Menschen, 1910, S. 152.)

3. B entspricht einem Minimalgehalt der als Salze gebundenen flüchtigen Fettsäuren.[1])

Die qualitative Charakterisierung der einzelnen in den Destillaten vorhandenen flüchtigen Fettsäuren kann mit den üblichen Reaktionen erreicht werden; die quantitative Trennung derselben ist wohl am besten nach der bei Neuberg und Rosenberg[2]) angegebenen Methode (Darstellung der Calcium- und Silbersalze) zu erreichen; ob diese auch bei sehr kleinen Mengen gute Resultate gibt, werden weitere von uns bereits in Angriff genommene Untersuchungen zeigen. Schon Mengen von 0,5 ccm $^n/_{10}$ flüchtiger Fettsäuren sind mit Exaktheit nachgewiesen; es würde diese Menge etwa 0,003 g Essigsäure entsprechen. Sind in der zu untersuchenden Flüssigkeit keine oder nur Spuren flüchtiger Fettsäuren vorhanden, so wurden auch bei 2stündigen Destillationen nie mehr als 0,2 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge zur Neutralisation des Destillates verbraucht. Die Methode eignet sich also auch zum Nachweis kleinster Mengen flüchtiger Fettsäuren.

Bei den Kontrollversuchen, die ich zur Erprobung der Vakuum-Dampf-Destillations-Methode zunächst in den wässerigen Lösungen der freien flüchtigen Fettsäuren anstellte, ergab sich (vgl. Experimenteller Teil, Versuch I, 1 und 2), daß in 2 Stunden jede überhaupt in Betracht kommende Menge der betr. Säuren, insbesondere auch der höchstsiedenden, der Caprinsäure, quantitativ übergeht. Milchsäure dagegen (Versuch I, 3 und 4), die im Wasserdampfstrom bei 100° destilliert, in 2 Stunden vollständig flüchtig ist, bleibt bei der Vakuum-Dampf-Destillation nahezu quantitativ im Rückstand. Jedoch setzen sowohl Milchsäure wie auch Bernsteinsäure und Citronensäure, in geringerem Maße auch die hohen Fettsäuren, die in der gleichen Flüssigkeit vorhandenen flüchtigen Fettsäuren aus ihren Salzen in Freiheit (Versuch I, 5 bis 10). Butterfett, resp. die darin enthaltenen Glyceride flüchtiger Fettsäuren werden bei der Vakuum-Dampf-Destillation auch bei Zusatz von Phosphorsäure nicht hydrolysiert, während die Destillation bei 100° im

---

[1]) Die erwähnten Maximal- und Minimalwerte sind oft von größerem Werte als absolute Zahlen, wie man sie bisher mit nicht einwandfreien Methoden erhielt. Das gilt jedenfalls für die Fragen, zu deren Lösung die Methode ausgearbeitet wurde.

[2]) C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 7, 178, 1907.

Dampfstrom eine langsame Spaltung erkennen läßt (Versuch I, 11 und 12).

Bei der Destillation frischer, roher Kuhmilch (Versuch II, 1, a bis e) wurden, wie ja auch zu erwarten stand, keine freie Säure und auch (bei Zusatz von Phosphorsäure) nur sehr geringe Mengen gebundener flüchtiger Fettsäuren gefunden. Aber auch von den zur Kontrolle zugesetzten freien flüchtigen Fettsäuren wurde stets nur ein — bei den einzelnen Säuren wechselnder — Prozentsatz im Destillat wiedererhalten; eine gewisse — bei den einzelnen Säuren sich gleichbleibende — Säuremenge blieb im Rückstand, und zwar wurden durchschnittlich 4,3 ccm $^{n}/_{10}$-Säure von 100 ccm frischer Milch zurückgehalten. Diese Regelmäßigkeit ließ erkennen, daß es sich nicht um Ungenauigkeiten der Methode handelt, sondern daß in der Tat von frischer Milch ein bestimmter Prozentsatz Säure gebunden wurde.

Wir wollen nicht entscheiden, ob dieses Bindungsvermögen von dem Übergange von Di- in Monophosphat, ob es von einer Umwandlung der Kalk-Casein-Verbindung herrührt. Wahrscheinlich ist es uns jedenfalls, daß diese Bindung einer chemischen Salzbildung gleich kommt.

Bei Versuchen mit spontan zersetzter Milch (Versuch II, 2 bis 4) wurde, sobald die Milch auch nur schwach sauer (Lackmus) reagierte, wie bekannt, stets freie Säure gefunden, und die zur Kontrolle zugesetzten flüchtigen Fettsäuren wurden quantitativ im Destillat wiedererhalten. In Versuch II, 3 ist die neue Methode der älteren gegenübergestellt, bei Zusatz von gleichen Mengen Milchsäure zu zersetzter Milch.

Bei Frauenmilch (Versuch III), Milchmischungen, Schleim- und Malzabkochungen (Versuch IV, 1 bis 4) wurde jeweils, solange die betreffende Flüssigkeit frisch war, d. h. auf Lackmus neutral reagierte, Säurebindungsvermögen beobachtet. Sobald sich jedoch durch spontane Zersetzung freie Säure gebildet hatte, wurden flüchtige Fettsäuren im Destillat nachgewiesen und zur Kontrolle zugesetzte Säuren quantitativ wiedererhalten.

An Suspensionen von Säuglingsfaeces (entleert bei natürlicher Ernährung) wurden die beiden Modifikationen der neuen Methode (Versuch V, I), Kontrollversuche (Versuch V, 2) und

Vergleichsversuche mit dem älteren Dampfdestillationsverfahren (Versuch V, 3) angestellt; auch hierbei waren die Vorzüge und die Genauigkeit der Vakuum-Dampf-Destillation evident.

Mit Mageninhalt (Versuch VI) und Darminhalt von Hunden (Versuch VII) wurden zahlreiche Versuche gemacht, von denen aber hier nur zwei für die Methodik in Betracht kommende und ein Kontrollversuch angeführt seien.

Die Fehler der neuen Methode bewegen sich bei aufmerksamer, jedoch nicht ängstlicher Einhaltung der Wasserbadtemperatur, der Dampfzufuhr und des Vakuumdruckes um eine Höchstgrenze von 5 %, die bei Anwendung der Methode auf physiologische Untersuchungen meist außer acht gelassen werden darf. Diese Fehlergrenzen werden bedingt durch geringe, immerhin schon bei der Temperatur von 50 bis 60° in Betracht kommende hydrolytische Spaltungen unter Bildung flüchtiger Bestandteile sowie durch ein mechanisches Zurückhalten kleinerer Säuremengen durch klebrige Flüssigkeiten, wie Schleim usw. Die durch Zersetzung entstehenden Fehler sind jedoch, wie die betreffenden Vergleichsversuche an Milch und Stuhl zeigen, gegenüber den bei der älteren Methode der Dampfdestillation bei 100° erzielten Resultaten äußerst geringe zu nennen. Auch in den Kontrollversuchen habe ich keine größere Genauigkeit zu erzielen versucht, als bei physiologischen Arbeiten zu erreichen ist: die zur Kontrolle zugesetzten Säuren wurden meist unverdünnt mit der Capillarpipette abgemessen, was ja immer mit geringen Ungenauigkeiten verbunden ist.

Apparatur und Versuchsanordnung.

Die für die Vakuum-Dampf-Destillation erforderliche Apparatur ist aus der Figur 1 ohne weiteres verständlich und besteht aus *A*, einem Kessel zur Erzeugung von Wasserdampf, der, mit einem einfachen Bunsenbrenner geheizt, die richtige Menge Dampf liefert. Zum Ausgleich von Druckschwankungen ist er mit einem mindestens 1 m langen und ziemlich weiten Steigrohr versehen. Das Dampfrohr des Kessels ist durch einen Druckschlauch mit Klemmschraube *B* mit einem an der Spitze ausgezogenen Glasrohr verbunden, das bis auf den Boden des Claisen-Kolbens *C* reicht. Dieser Kolben enthält die zu untersuchende Flüssigkeit, trägt den Tropftrichter *D* und ist

mit dem Vorlagekolben *E* verbunden. Zwischen Kolben *E* und die mit Manometer *G* verbundene Wasserstrahlpumpe ist eine in Eis stehende zweite Vorlage *F* geschaltet, die in *E* nicht kondensierte Wasser- und Säuredämpfe verdichtet.

Die Größe der Kolben *C* und *E* richtet sich selbstverständlich nach der aufzunehmenden Flüssigkeitsmenge, jedoch muß bei Kolben *C* dem Schäumen von Flüssigkeiten, wie Milch, Stuhl, Schleim usw. Rechnung getragen werden. Kolben von weniger als 1 Liter Inhalt sind aus diesem Grunde unratsam.

Fig. 1.

Das System wird bei zugedrehter Klemmschraube *B* evakuiert, dann erst mit dem Dampfrohr verbunden und nun die Dampfzufuhr bei *B* so reguliert, daß durch das Steigrohr weder Luft in den Kessel hineingesaugt noch Wasser aus demselben herausgepreßt wird. Nach sehr kurzer Zeit kann man bei gleichmäßig wirkenden Brennern und Luftpumpe das Niveau der Wassersäule im Steigrohr so gleichmäßig erhalten, daß man den Apparat sich selbst überlassen kann.

Einem bei Beginn der Evakuation eintretenden Aufschäumen der Flüssigkeit begegnet man durch kurzes Öffnen des Tropftrichter-Hahnes *D*. Die Flüssigkeit beruhigt sich rasch und konzentriert sich bei fortschreitender Destillation trotz des Dampfstromes allmählich. Man kann (besonders bei Destillationsart A, ohne Phosphorsäurezusatz) bis auf etwa $^1/_3$ des

ursprünglichen Volums eindampfen lassen und füllt dann jeweils mit 100 ccm dest. Wasser durch den Tropftrichter nach.

Die Temperatur des Wasserbades beträgt während der ganzen Destillation etwa 60°. Im allgemeinen verläuft die Destillation richtig, wenn man alle 10 bis 15 Minuten je 100 ccm Wasser nachzufüllen hat und dann in 60 Minuten 600 bis 900 ccm Destillat erhält. Ich habe bei den Kontrollversuchen stets das Destillat der ersten Stunde gesondert von dem der zweiten Stunde titriert, um so den Verlauf der Destillation kontrollieren zu können. Das Manometer soll den bei einer guten Wasserstrahlpumpe üblichen Druck von 10 bis 15 mm anzeigen.

Die Dauer der Destillation beträgt längstens 4 Stunden. Man kann mehrere Bestimmungen gleichzeitig ausführen, etwa 3 bis 4 pro die, wenn man 2 Apparate aufstellt.

Experimenteller Teil.

I. Versuche in wässeriger Lösung.

1. 200 ccm Wasser + 10 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure = 9,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
   + 0,1 „ Buttersäure = 10,9 „ „
   + 0,1 „ Capronsäure = 8,1 „ „
   + 0,1 g Caprinsäure = 5,7 „ „
   33,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 700 ccm verbr. 33,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 30 „ 380 „ „ 0,6 „ „

in 1 $^1/_2$ Stunden 33,7 ccm 100,8 % der zuges. Säuren wiedererhalten.

2. 200 ccm Wasser + 0,2 g Caprinsäure = 11,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 620 ccm verbr. 9,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 560 „ „ 1,3 „ „
wiedererhalten 11,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH
entsprechend 98,3 % der zuges. Säuren.

3. 250 ccm Wasser + 0,25 ccm Milchsäure = 24,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH (titriert)

im V.-D. destilliert:

Dest.: 60 Min., 650 ccm verbr. 0,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH

entsprechend 2 % der zuges. Milchsäure.

Rückstand titriert: 23,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH = 97 %.

4. 250 ccm Wasser + 0,25 ccm Milchsäure = 24,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH (titriert)

im Dampfstrom bei 100° destilliert:

Dest. I: 60 Min., 1000 ccm verbr. 15,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 1000 „ „ 7,9 „ „

in 2 Stunden übergegangen 23,6 ccm $^1/_{10}$-NaOH = 98% der zuges. Milchsäure.

5. 250 ccm Wasser + 0,2 ccm Milchsäure = 19,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH (titriert)
+ 0,5 g essigs. Kali = 50,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 800 ccm verbr. 19,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 30 „ 350 „ „ 0,4 „ „

durch Milchsäure freigem. Essigsäure: 19,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH = 99%

6. 200 ccm Wasser + 0,22 g Citronensäure = 31,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH
+ 0,5 g Kaliumacetat = 50,0 „ „

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 600 ccm verbr. 30,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 30 „ 400 „ „ 1,4 „ „

durch Citronensäure freigem. Essigsäure: 32,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH = 102% der ber. Menge.

7. 200 ccm Wasser + 0,2 g Bernsteinsäure = 33,9 ccm $^1/_{10}$NaOH
+ 0,5 g Kaliumacetat = 50 „ „

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 680 ccm verbr. 27,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 700 „ „ 4,9 „ „

durch Bernsteinsäure freigem. Essigs.: 32,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH = 97%

8. 200 ccm Wasser + 0,2 ccm Oleinsäure = 7,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
+ 0,4 g Calciumbutyrat = 40 „ „

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 750 ccm verbr. 4,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

In 1 Stunde freigem. Buttersäure, entsprechend 69% der angew. Oleinsäure.

9. 200 ccm Wasser + 0,2 g Palmitinsäure = 7,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
+ 0,2 g Stearinsäure = 7,0 „ „
14,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
+ 0,5 g Calciumbutyrat 50 „ „

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 750 ccm verbr. 1,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

In 1 Stunde freigem. Buttersäure, entsprechend 9 % der angew. gesätt. hohen Fettsäuren.

10. 200 ccm Wasser + 0,2 g Oleinsäure = 7,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
+ 0,2 g Stearinsäure = 7,0 „ „
+ 0,2 g Palmitinsäure = 7,8 „ „
21,9 ccm $^1/_{10}$-HaOH
+ 0,7 g Calciumbutyrat 70 „ „

im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 780 ccm verbr. 12,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 800 „ „ 3,3 „ „

In 2 Stunden freigem. Buttersäure: 15,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH entsprechend 72 % der angewandten gemischten hohen Fettsäuren.

11. 11,0 g Butterfett (aus frischer bei 60° verflüssigter und filtrierter Butter) unter Zusatz von 10 ccm Phosphorsäure (spez. Gewicht 1,12) in 200 ccm Wasser suspendiert und im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 800 ccm verbr. 0,15 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

12. 9,5 g Butterfett (wie oben bereitet) unter Zusatz von 10 ccm Phosphorsäure (spez. Gewicht 1,12) in 200 ccm Wasser, bei 100° im Dampfstrom destilliert:

Dest. I: 60 Min., 1000 ccm verbr. 3,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 50 „ 1000 „ „ 2,8 „ „

Es findet bei 100° also eine dauernde langsame Abspaltung flücht. Fettsäuren statt.

II. Versuche mit Kuhmilch.

1. Rohe frische Kuhmilch:

a) 250 ccm Milch im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 800 ccm verbr. 0,07 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 700 „ „ 0,03 „ „ .

Nach Zugabe von 7,5 ccm Phosphorsäure:

„ III: 60 Min., 800 ccm verbr. 0,45 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ IV: 60 „ 750 „ „ 0,25 „ „
gebund. Säuren 0,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH

b) 100 ccm Milch + 10 ccm $^1/_{10}$-Essigs. = 9,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 450 ccm verbr. 3,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 500 „ „ 2,4 „ „

von der zugefügten Säure wiedererh. 5,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
= 58,8 %
im Rückstand geblieben 4,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH

c) 200 ccm Milch + 0,2 ccm Butters. = 21,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 600 ccm verbr. 8,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 650 „ „ 5,4 „ „
wiedererhalten 13,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH
im Rückstand geblieben 8,4 „ „
auf 100 ccm Milch berechn. R. 4,2 „ „

d) 200 ccm Milch + 0,2 g Caprinsäure = 11,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 620 ccm verbr. 1,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 600 „ „ 1,1 „ „
wiedererhalten 2,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH
= 19,3%
im Rückstand geblieben 9,2 „ $^1/_{10}$-NaOH
auf 100 ccm Milch berechn. R. 4,6 „ „

2. Spontan zersetzte Kuhmilch:

a) 100 ccm Milch nach 2tägig. Stehen bei Zimmertemperatur im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 620 ccm verbr. 10,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 500 „ „ 1,6 „ „
flüchtige Säuren erh. 11,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH

b) 100 ccm derselben Milch wie bei Versuch a
+ 15 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure = 14,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH

Dest. I: 60 Min., 500 ccm verbr. 23,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 500 „ „ 2,8 „ „
25,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
— 11,7 „ „
von der zugef. Essigsäure wiedererh. 14,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
= 97,2%

c) 200 ccm Vilbelmilch — Buttermilch nach Rietschel, einige Wochen aufbewahrt, saure R. — im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 720 ccm verbr. 12,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 700 „ „ 2,6 „ „
gesamte freie Säure 15,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH
auf 100 ccm Milch berechn. 7,7 „ „

d) 200 ccm derselben Vilbelmilch + 0,2 ccm Milchsäure im V.-D. destilliert:

Dest. I: 60 Min., 750 ccm verbr. 13,6 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 700 „ „ 1,8 „ „

danach Milchsäure-Zusatz ohne Einfluß auf die Dest.

3. a) Spontan zersetzte Kuhmilch: 3 Monate verschlossen bei Zimmertemperatur (durchschnittlich 24°) aufbewahrt, stark saurer Geruch und Reaktion.

150 ccm dieser Milch + 0,2 ccm Milchsäure (spez. Gewicht 1,2) unter Zusatz von 10 ccm Phosphorsäure (spez. Gewicht 1,12) bei 100° im Dampfstrom destilliert:

Dest. I:	in 3 Stunden	1000 ccm verbr. 29,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II:		1000 „ „ 12,1 „ „
„ III:		1000 „ „ 10,9 „ „
„ IV:		1000 „ „ 11,4 „ „
		In 3 Stunden: 64,3 ccm $^1/_{10}$-Säure

erhalten.

150 ccm derselben Milch + 0,2 ccm Milchsäure (spez. Gewicht 1,2) unter Zusatz von 10 ccm Phosphorsäure (spez. Gewicht 1,12) im V.-D. destilliert:

Dest. I:	75 Min.,	1000 ccm	verbr.	25,0 ccm	$^1/_{10}$-NaOH
„ II:	45 „	600 „	„	22,9 „	„
„ III:	60 „	750 „	„	2,9 „	„
„ IV:	60 „	750 „	„	2,3 „	„

In 2 Stunden 27,9 ccm $^1/_{10}$-Säure erhalten.
„ 4 „ 32,1 „ „ „

Während bei 100° eine Grenze der Destillation nach 3 Stunden noch nicht gezogen werden kann und Milchsäure in sehr erheblichem Maße mit übergeht, beträgt bei der V.-D.-Destillation die Menge der in den ersten 75 Minuten übergehenden Säuren 78% der in 4 Stunden erhaltenen Gesamtsäuremenge.

b) 250 ccm Milch + 0,25 ccm Milchsäure im V.-D. destilliert:
Dest. I: 60 Min., 850 ccm verbr. 0,08 ccm $^1/_{10}$-NaOH
nach Zugabe von 7,5 ccm Phosphorsäure:
Dest. II: 60 Min., 850 ccm verbr. 0,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH
Die Milchsäure geht also bei der V.-D.-Destillation nur in Spuren über.

4. Fortschreitende Zersetzung der rohen Milch im verschlossenen Gefäß bei Zimmertemperatur (durchschnittl. 25°).

a) 250 ccm frische rohe Milch im V.-D. destilliert:
Dest. I: 60 Min., 800 ccm verbr. 0,08 ccm $^1/_{10}$-NaOH
auf 100 ccm Milch 0,032 „ „

b) 250 ccm derselben Milch nach 2 Tagen:

Dest. I: 60 Min., 850 ccm verbr. 6,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 800 „ „ 3,7 „ „

9,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
auf 100: 3,8 „ „

c) 250 ccm derselben Milch nach 4 Tagen:

Dest. I: 60 Min., 900 ccm verbr. 8,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 850 „ „ 2,8 „ „

11,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH
auf 100: 4,5 „ „

d) 250 ccm derselben Milch nach 8 Tagen:

Dest. I: 60 Min., 920 ccm verbr. 11,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 900 „ „ 3,7 „ „
auf 100: 5,9 „ „

e) 250 ccm derselben Milch nach 20 Tagen:

Dest. I: 60 Min., 900 ccm verbr. 10,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 850 „ „ 4,8 „ „

15,6 ccm $^1/_{10}$-NaOH
auf 100: 6,24 „ „

III. Versuche mit Frauenmilch.

1. Frische Frauenmilch (neutral reagierend).

a) 250 ccm im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., 900 ccm verbr. 0,08 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 900 „ „ 0,04 „ „

0,12 ccm $^1/_{10}$-NaOH

b) 150 ccm + 0,2 ccm Buttersäure = 21,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., 750 ccm verbr. 14,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 720 „ „ 1,8 „ „

von der zuges. Säure erhalten 16,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH
im Rückstand . . . . 5,5 „ „
auf 100 ccm Milch gebunden . 3,7 „ „

2. Zersetzte Frauenmilch (9 Tage verschlossen im Eisraum gestanden, saurer Geruch und Reaktion).

a) 250 ccm im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., 670 ccm verbr. 9,6 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 630 „ „ 2,1 „ „

11,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH

b) 250 ccm + 10 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure = 9,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
0,1 „ Buttersäure = 10,9 „ „
0,1 „ Caprylsäure = 6,4 „ „

27,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH

Dest. I: 60 Min., 900 ccm verbr. 34,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 750 „ „ 3,8 „ „

38,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH
— 11,7 „ „

von der zuges. Säuren wiedererhalten 26,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
= 99,3%

IV.

1. Milchmischung (frisch, neutral reagierend):
$^2/_3$ Milch
$^1/_3$ Mehlsuppe } sterilisiert.
1,5% Rohrzucker
150 ccm im V.-D. dest.:
Dest. I: 60 Min., 650 ccm verbr. 0,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH
Nach Zugabe von 9,7 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure:
„ II: 120 Min., 1600 ccm verbr. 5,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH
Im Rückstand geblieben 4,7 „ $^1/_{10}$-Säure.

2. Milchmischung nach 4 tägigem Stehen (18°), schwach sauer reagierend:
$^2/_3$ Milch
$^1/_3$ Wasser } abgekocht und bedeckt stehen gelassen.
5% Milchzucker
Dest. I: 60 Min., 720 ccm verbr. 2,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 700 „ „ 1,2 „ „

Erhalten an flüchtigen Säuren 3,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH

3. Schleimabkochung.

6% Haferschleim in Wasser, sterilisiert; bei Zimmertemperatur aufbewahrt:

a) 1 Flasche (180 ccm) nach 2 Tagen, neutral reagierend:
Dest. I: 60 Min., 800 ccm verbr. 0,07 ccm $^1/_{10}$-NaOH
Nach Zugabe von 9,7 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure:
„ II: 120 Min., 1550 ccm verbr. 6,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH
Im Rückstand geblieben 3,5 „ $^1/_{10}$-Säure.

b) 2 Flaschen (zus. 400 ccm) nach 4 Tagen, schwach sauer reagierend:

200 ccm im V.-D. dest.:

Dest. I: 120 Min., 1600 ccm verbr. 3,1 ccm $^1/_{10}$-NOH

200 ccm + 0,2 ccm Buttersäure verbr. 21,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH

0,2 „ Capronsäure „ 16,2 „ „

0,2 „ Milchsäure „ 20,3 „ „

Dest. I: 60 Min., 750 ccm verbr. 38,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH

„ II: 60 „ 800 „ „ 2,5 „ „

40,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH

— 3,1 „ „

von den zuges. Fettsäuren erhalten 37,6 ccm $^1/_{10}$-NaOH

= 99,0%

Milchsäure nicht überdestilliert.

4. „Kellersche Malzsuppe."

a) Am Tage der Sterilisation, neutrale Reaktion:

200 ccm im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., 700 ccm verbr. 0,15 ccm $^1/_{10}$-Schwefelsäure,

200 ccm + 9,7 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure im V.-D. dest.:

Dest. I u. II: 120 Min., 1470 ccm verbr. 0,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

Im Rückstand geblieben 9,0 „ $^1/_{10}$-Säure.

b) Nach 3tägigem Stehen bei 19 bis 20°, saure Reaktion:

220 ccm im V.-D. dest.:

Dest. I u. II: 120 Min., 1300 ccm verbr. 2,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

220 ccm + 10 ccm $^1/_{10}$-Essigsäure 9,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH

+ 0,2 „ Caprylsäure . 12,8 „ „

22,5 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

Dest. I u. II: 120 Min., 1480 ccm verbr. 23,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH

— 2,8 „ „

wiedererhalten 21,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH

= 93,9%

V. Stuhl von mit Frauenmilch ernährtem Kinde.

2 Tagesstühle, zus. 40 g, in Guttapercha aufgefangen, breiig, sauer reagierend, bis zur Verarbeitung im Eisschrank aufbewahrt, in 3 gleiche Teile geteilt.

1. $^1/_3$ des Gesamtstuhls in 150 ccm Wasser suspendiert, im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., 700 ccm verbr. 20,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH

„ II: 60 „ 670 „ „ 1,1 „ „

freie Säuren 21,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH

Nach Zugabe von 10 ccm Phosphorsäure (spez. Gew.):

Dest. III: 60 Min., 750 ccm verbr. 0,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ IV: 60 „ 700 „ „ 0,8 „ „

gebundene Säuren 1,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
gesamte flüchtige „ 23,0 „ „
in 4 Stunden dest.

2. $^1/_3$ des Gesamtstuhls + 0,2 ccm Buttersäure
= 21,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
+ 0,2 ccm Milchsäure
= 19,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH (titr.)
+ 0,2 ccm essigsaures Kali
= 20,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH

In 150 ccm Wasser suspendiert und im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., 850 ccm verbr. 59,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 800 „ „ 1,3 „ „

freie Säuren 61,2 ccm $^1/_{10}$-NaOH

Nach Zugabe von 10 ccm Phosphorsäure:

Dest. I: 60 Min., 800 ccm verbr. 2,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ 800 „ „ 1,9 „ „

gebundene Säuren 4,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH
gesamte flüchtige „ 65,5 „ „

Überdestilliert:

im Stuhl vorh. freie Säuren (Vers. 1) 21,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH
zugesetzte Buttersäure . . . . . . 21,8 „ „
durch Milchsäure freigem. Essigsäure 19,7 „ „

Ber. freie flücht. Säuren 62,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH
Gef. „ „ „ 61,2 „ „
= 97,5%

Ber.: Gesamtsäuren 64,8 ccm
Gef.: „ 65,5 „ = 101%

3. $^1/_3$ des Gesamtstuhls + dieselben Zusätze wie bei Versuch 2 im Dampfstrom bei 100° dest.:

Dest. I: 40 Min., 1000 ccm verbr. 50,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 40 „ 1000 „ „ 9,8 „ „
„ III: 40 „ 1000 „ „ 4,0 „ „

Freie Säuren 63,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH.

Nach Zugabe von 10 ccm Phosphorsäure:

Dest. IV:	40 Min., 1000 ccm verbr.	6,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH	
„ V:	40 „ 1000 „ „	4,8 „ „	
„ VI:	40 „ 1000 „ „	4,4 „ „	
	gebundene Säuren	15,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH	
	Gesamtsäuren . .	79,8 „ „	
Ber.:	Freie Säuren	62,8 ccm	
Gef.:	„ „	63,9 „	$= 102\%$
Ber.:	Gesamt Säuren	64,8 „	
Gef.:	„	79,8 „	$= 127\%$

VI. Mageninhalt (Versuch am getöteten Hund).

Mittelgroßer Hund 2 Tage mit Milchmischung — $^1/_2$ Milch, $^1/_2$ Wasser, 10% Milchzucker — gefüttert. $2^1/_2$ Stunden nach der letzten Verfütterung von 500 ccm der Milchmischung getötet: 360 g Mageninhalt, wässerig, sauer reagierend.

In 2 gleiche Teile geteilt.

1. 180 g Mageninhalt im V.-D. dest.:

Dest. I:	60 Min., 530 ccm verbr.	7,7 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II:	60 „ 600 „ „	3,2 „ „
	freie flücht. Säure	10,9 ccm $^1/_{10}$-NaOH
	auf 100:	6,0 „ „

2. 180 g Mageninhalt

	+ 0,1 ccm Capronsäure	= 8,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
	+ 10 „ $^1/_{10}$-Essigsäure	= 9,7 „ „
		17,8 ccm $^1/_{10}$-NaOH.
Dest. I:	60 Min., 800 ccm verbr.	25,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II:	60 „ 700 „ „	3,2 „ „
		28,3 ccm $^1/_{10}$-NaOH
	bei Versuch 1 gefundene Säure	10,9 „ „
	von den zuges. Säuren erhalten	17,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH $= 98\%$

VII. Darminhalt (Versuch am getöteten Hund).

Mittelgroßer Hund 5 Tage mit täglich ca. 500 ccm frischer Milch (per Schlundsonde) gefüttert. Zuletzt 500 ccm Milch eingegeben und nach 3 Stunden getötet.

Dünndarminhalt: 160 g, gelb bis grünlich, schwach sauer reagierend.

1. Dünndarminhalt im V.-D. dest.:

Dest. I: 60 Min., (1500 ccm verbr. 2,1 ccm $^1/_{10}$-NaOH
„ II: 60 „ (1500 „ „ 0,3 „ „

freie flücht. Säuren 2,4 ccm $^1/_{10}$-NaOH

Nach Zugabe von 10 ccm Phosphorsäure (spez. Gew. 1,12):

Dest. III: 120 Min., 1400 ccm verbr. 8,0 ccm $^1/_{10}$-NaOH
entspr. 8,0 ccm gebund. $^1/_{10}$-Säure.

Bestimmung des Zuckers durch Reduktion von Farbstoffen.

Bemerkung zu der Mitteilung von K. A. Hasselbalch und J. Lindhard, diese Zeitschr. 27, 273, 1910.

Von

Neumann Wender, Czernowitz.

(Eingegangen am 5. September 1910.)

Im Bd. 27, S. 273 dieser Zeitschrift veröffentlichten K. A. Hasselbalch und J. Lindhard eine „neue Methode zur Bestimmung des Zuckers im Harn". Diese Methode gründet sich darauf, daß eine alkalische Safraninlösung in der Wärme durch Traubenzucker entfärbt wird.

Da die Methode von den genannten Autoren als neu bezeichnet wird, sehe ich mich zu nachstehender Richtigstellung veranlaßt:

Die Eigenschaft gewisser Farbstoffe, unter dem Einflusse von Reduktionsmitteln Wasserstoff aufzunehmen und in ihre Leukoverbindungen überzugehen, versuchte Crismer[1]) zuerst in der Harnanalyse anzuwenden.

Er benützte zum Nachweis von Zucker im Harn eine alkalische Safraninlösung, welcher Farbstoff durch Traubenzucker beim Erhitzen entfärbt wird.

In meiner vor 20 Jahren erschienenen Anleitung zur Untersuchung des Harnes[2]) ist die Safraninprobe unter den Reduktionsproben zum Nachweis von Traubenzucker bereits beschrieben.

Crismer hat übrigens in seiner zitierten Arbeit auch auf die Eigenreduktion der Harne hingewiesen und das Verhalten verschiedener Harnbestandteile sowie von Arzneistoffen gegenüber alkalischer Safraninlösung untersucht.

---

[1]) Anal. soc. méd. chirurg. Liège 1888 durch Pharm. Zeitg. 33, 651. — Arch. d. Pharm. 226, 1134 und 227, 35. — Zeitschr. f. analyt. Chem. 28, 756. — Chem. Zentralbl. 1888, 1510. — Modifikationen dieser Methode sind in der Folge von Christophor-Crofton (Zeitschr. f. angew. Mikroskopie 1904, 334) und von Kellas-Wethered (Münch. med. Wochenschr. 1897, 39) veröffentlicht worden.

[2]) Wender, Anleitung zur Untersuchung des Harnes. Wien 1890, S. 33.

Gelegentlich der Nachprüfung der Crismerschen Probe habe ich vor längerer Zeit auch das Verhalten anderer reduzierbarer Farbstoffe gegenüber Traubenzucker untersucht und im Methylenblau einen Körper gefunden, der sich vorzüglich zum Nachweis von Traubenzucker im Harne eignet, weil der Übergang der Färbung viel deutlicher hervortritt wie bei den Safraninen.

Meine Methode habe ich noch im Jahre 1893 veröffentlicht[1]) und mich seitdem in zahllosen Fällen von der Brauchbarkeit derselben überzeugt.

Ich habe dieselbe auch zur quantitativen Bestimmung des Zuckers im Harne ausgearbeitet und den Fehler, der durch Eigenreduktion des Harnes bedingt wird, durch entsprechende Verdünnung mit Wasser eliminiert. Bezüglich der Details verweise ich auf meine Abhandlung.

Es nimmt mich nun wunder, daß die Herren Hasselbalch und Lindhard von einer „neuen" Methode sprechen und daß, trotz reicher Berücksichtigung der Literatur, weder die Probe von Crismer noch meine auf gleichem Prinzipe beruhende Methylenblau-Methode in ihrer Arbeit Ewähnung findet.

---

[1]) Pharm. Post, Wien, 26, 393, 1890; Zeitschr. f. analyt. Chemie 33, 118; Chem. Centralbl. 1894, II, 670.

Die Bestimmung der Phenole im Rinderharn.

Von

C. Neuberg und A. Hildesheimer.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Die Ermittelung der Phenole in zuckerhaltigen Urinen macht, wie früher von C. Neuberg[1]) gezeigt ist, eine Modifikation des üblichen bequemen jodometrischen Verfahrens nötig; denn unter dem Einflusse von Mineralsäuren entstehen aus allen Kohlenhydraten mehr oder minder große Mengen flüchtiger jodbindender Produkte [E. Salkowski[2])], die bei der direkten jodometrischen Analyse als „Phenole" mitbestimmt werden.

Die damals vorgeschlagene Modifikation, die eine Trennung der „Phenole" und jodbindenden Begleiter bezweckt, hat sich seither vielfach bewährt. Noch jüngst schreibt K. Dobrwotski[3]) in einer Mitteilung aus dem Institut Pasteur zu Paris: „Il faut toujours se servir des indications de Neuberg lorsque le liquide à examiner renferme du sucre."

Ganz in Übereinstimmung hiermit hat L. Borchardt[4]) unter Weintrauds Leitung gezeigt, daß auch der üblichen jodometrischen Acetonbestimmung aus der Gegenwart von Kohlenhydraten beträchtliche Fehler erwachsen, und er hat den interessanten Nachweis geliefert, daß schon sehr verdünnte und selbst

[1]) C. Neuberg, Über die quantitative Bestimmung des Phenols im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 123, 1899.

[2]) E. Salkowski, Pflügers Archiv 56, 339, 1894.

[3]) K. Dabrwotski, Des microbes producteurs de phénol. Ann. de l'Institut Pasteur, Paris, 24, 598, 1910.

[4]) L. Borchardt, Über Fehlerquellen bei der Bestimmung des Acetons im Harn. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 62, 1906.

schwache organische Säuren, wie die Essigsäure, in der Siedehitze flüchtige jodbindende Produkte aus Zuckerarten in merklicher Menge erzeugen.

Daher mußte in hohem Maße die vor einiger Zeit von W. Mooser[1]) gemachte Angabe auffallen, daß einfach die Wahl von Phosphorsäure an Stelle von Schwefelsäure die Bildung von jodbindenden Produkten aus Kohlenhydraten ausschließe. Diese Behauptung, die Mooser speziell auch für Kuhharn aufstellt, schien um so mehr einer Nachprüfung zu bedürfen, als Mooser (l. c.) selbst anführt, daß bei Anwendung von Phosphorsäure die Abspaltung der Phenole langsamer aus ihren gepaarten Verbindungen vor sich gehe. Zu letzteren gehört aber nach älteren und neueren Erfahrungen[2]) im Pflanzenfresserharn in reichlicher Menge die „Phenol"-Glucuronsäure; der Zerfall der letzteren bei Destillation mit H_3PO_4 unter Furfurolbildung, d. h. unter Abspaltung einer flüchtigen jodbindenden Substanz, war uns aber bekannt und mußte sich bei längerer Destillation noch mehr geltend machen.

Der Urin der Pflanzenfresser ist außer an gepaarten Glucuronsäuren auch reich an eigentlichen Kohlenhydraten, z. B. an löslichen Pentosanen bzw. Pentosen. Hinsichtlich der Literatur über diesen Punkt sei aus neuerer Zeit nur auf die Arbeit von L. Cominotti[3]) verwiesen.

Die Nachprüfung der Angaben von W. Mooser erstreckte sich auf das Verhalten von verschiedenen Kohlenhydratlösungen und von Bullenharn bei der Destillation mit Phosphorsäure.

Die Konzentration der letzteren wählten wir nie über 5% H_3PO_4.

Die Angaben von Mooser über diesen Punkt sind unklar.[4]) Er schreibt[4]) vor, eine abgewogene, schwach alkalisch gemachte Harnmenge von 250 bis 500 g auf dem Wasserbade auf $^1/_5$ zu konzentrieren. Diese Menge soll dann in einen Destillationskolben überführt und nach Zusatz von sirupöser H_3PO_4 in einer Menge von ca. 5% zunächst auf 100 ccm abdestilliert und dann unter wiederholter Wassernachfüllung

---

[1]) W. Mooser, Beiträge zur Kenntnis der arom. Körper des Harns. Dissertation, Basel 1908; Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 155, 1909.

[2]) Ch. Porcher, Bull. de la Soc. centr. de méd. vet. 1902; — C. Tollens, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 138, 1910.

[3]) L. Cominotti, diese Zeitschr. 22, 106, 1909.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 170 bis 171.

bis zum Übertreiben aller Phenole zu Ende destilliert werden. Hier fehlt ersichtlicherweise eine Angabe über die zum Überspülen verwendete Wassermenge. Da aber gesagt ist, daß erst 5% H_3PO_4 zugegeben werden und dann Abdestillieren auf 100 ccm erfolgt, so ist wohl sicher, daß die wirkliche Konzentration an Phosphorsäure bei Mooser höher als 5%, also noch schädlicher als bei unseren Kontrollen gewesen ist.

1.

1,0 g reine krystallisierte l-Arabinose wurde in 100 ccm 5%iger Phosphorsäure gelöst und unter dauerndem Nachfüllen von jedesmal etwa 25 ccm Wasser am absteigenden Kühler destilliert.

Das Übergegangene wurde in einem Meßgefäße aufgefangen und gab starke Furfurolreaktionen. Die Destillation wurde unterbrochen, nachdem 500 ccm abgetrieben waren, d. h. zu einem Zeitpunkte, wo eine Phenoldestillation mit Harn noch keineswegs beendet gewesen wäre.

Das Destillat lieferte auf Zusatz von Phloroglucinlösung plus Salzsäure nach Tollens-Kröber[1]) 0,2160 g Furfurolphloroglucid; die Menge ist recht bedeutend, wenn man bedenkt, daß die Destillation willkürlich abgebrochen wurde, daß noch reichlich Furfurol überging und daß die Art seiner Bestimmung im vorliegenden Falle nicht die für quantitative Ermittlungen (Destillation mit HCl!) vorgeschriebene war.

2.

1,0 g Traubenzucker wurde mit 1,0 g Phosphorsäure und 100 ccm Wasser unter ständiger Nachfüllung von H_2O destilliert, bis 1 l übergegangen war. Das Destillat gab die Riminische Aldehydreaktion mit Nitroprussidnatrium plus Diäthylamin und reduzierte ammoniakalisch-alkalische Silberlösung.

100 ccm verbrauchten 5,5 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung, das Gesamtdestillat also 55,0 ccm; dabei war Jodoform deutlich erkennbar.

3.

0,5 g natürliche Phenolglucuronsäure wurden in 100 ccm 5%iger Phosphorsäure gelöst und, unter stetem Ersatz des Übergehenden durch Wasser, destilliert. Aufgefangen wurden 400 ccm Destillat, das reichlich Phenol und Furfurol enthielt.

---

[1]) B. Tollens-Kröber, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 239, 1902.

Die Abscheidung der letzteren als Phloroglucid[1]) ergab 0,0222 g; bezüglich der Beurteilung dieser Quantität gilt das sub 1 Gesagte.

4.

200 ccm frischer Bullenharn, der im Institut nach Heufütterung gewonnen war, wurden mit Salzsäure vom spez. Gew. 1,06 in bekannter Weise so lange destilliert, bis das Übergehende mit Anilinacetat keine Furfurolreaktion mehr gab. Die Menge des so erhaltenen Destillates belief sich auf 770 ccm und die daraus isolierte Quantität Furfurol-phloroglucid auf 0,0563 g.

5.

250 ccm desselben Bullenharns wurden mit 5%iger Phosphorsäure usw. destilliert, bis kein Phenol mehr überging. Isoliert wurden 0,0504 g Forfurol-phloroglucid.

Es bedarf keiner weiteren Belege, um zu zeigen, daß die Angaben Moosers über die Brauchbarkeit der Phosphorsäure für die direkte jodometrische Phenol- bzw. Kresolbestimmung bei Herbivorenharnen unzutreffend sind. Für die jodometrische Ermittlung ist daher bei Pflanzenfresser- und Diabetikerurinen die vor Jahren angegebene Modifikation des Kossler-Pennyschen Verfahrens erforderlich.

[1]) Ob das Furfurol-phloroglucid, das aus relativ stark phenol- bzw. kresolhaltigen Lösungen gefällt war, nicht verunreinigt ist, wurde hier und in den folgenden Beispielen außer Betracht gelassen.

Berichtigung zu der Arbeit:

Über Hexosephosphorsäureester.

Von

A. v. Lebedew.

(Bd. 28, S. 213.)

S. 224 Zeile 1:

statt: zu hohen Gehalt
lies: „ „ „ an N.

Autorenverzeichnis.

Battelli, F. und L. Stern. Die Alkoholoxydase in den Tiergeweben. S. 145.

Bertolini, Amilcare. Über das Verhalten der Oberflächenspannung bei der Verbindung von Toxin mit Antitoxin. S. 60.

Beuttenmüller, H. und Felicitas Stoltzenberg. Beitrag zum Stoffwechsel des Morbus Addisonii. S. 138.

Blumenthal, Ferdinand. Atoxyl. IV. S. 91.

Dahm, Karl. Die Bedeutung des mechanischen Teils der Verdauungsarbeit für den Stoffwechsel des Rindes. S. 456.

Davidsohn, Heinrich siehe Michaelis und Davidsohn.

Dimitz, Ludwig siehe Fränkel, Lipoide. XIII.

Elfer, Aladar siehe Fränkel und Elfer.

Elias, Herbert siehe Fränkel, Lipoide. XIV.

Embden, Gustav und Hermann Tachau. Über das Vorkommen von Serin im menschlichen Schweiße. S. 230.

Eppinger, Hans. Über Melanurie. S. 181.

Fleisher, Moyer S. siehe Loeb und Fleisher.

Fränkel, Sigmund. Über Lipoide. XIII. S. 295.

— — Desgl. XIV. S. 320.

— und Aladar Elfer. Über ein Verfahren der Serumtrocknung. S. 330.

Gatz, E. und R. Inaba. Zur Theorie der Wassermannschen Reaktion. S. 374.

Hebting, Josef. Versuche über Entgiftung der Blausäure durch schwefelabspaltende Substanzen. S. 208.

Hildesheimer, A. siehe Neuberg.

Hirata, Goichi. Beitrag zum Verhalten der Diastase im Blut und im Urin beim Kaninchen. S. 23.

Hladík, Jaroslav. Über Vakuumverdampfung. S. 29.

Jacobs, W. A. siehe Levene und Jacobs.

Jastrowitz, H. Studien über Oxalsäurebildung im Organismus. S. 34.

Inaba, R. siehe Gatz und Inaba.

Kaufmann, Ludwig. Über chemische und physiologische Eigenschaften des Triphenylstibinsulfids. S. 67.

— — Verhalten von Triphenylstibinsulfid im Tierkörper. S. 86.

Kawashima, K. Zur Kenntnis der Rindensubstanz der Nebennieren. S. 332.

Kondo, Kura. Über die Ausscheidung von organisch gebundenem Phosphor im Harn. S. 200.

Korsakow, Marie. Über den Einfluß der Zellipoide auf die Autolyse der Weizenkeime. S. 121.

Lebedew, A. v. Über Hexosephosphorsäureester. S. 213.

Levene, P. A. und W. A. Jacobs. Über das Vorkommen des freien Guanosins in der Pankreasdrüse. S. 127.

Liesegang, Raphael Ed. Die Veraschung von Mikrotomschnitten. S. 413.

Loeb, Jacques. Über den Einfluß der Konzentration der Hydroxylionen in einer Chlornatriumlösung auf die relative entgiftende Wirkung von Kalium und Calcium. S. 176.

— und Hardolph Wasteneys. Warum hemmt Natriumcyanid die Giftwirkung einer Chlor-

Pal..., ... Zur Kenntnis der Leberpigmente der wirbellosen Seetiere. S. 56.

Parnas, Jakob. Über fermen-

Yoshimura, Kiyohisa. Über Fäulnis-Basen (Ptomaine) aus gefaulten Sojabohnen (Glycine hispida). S. 16.

PAGE NOT AVAILABLE